



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0006052
(43) 공개일자 2012년01월17일

- (51) Int. Cl.
A61K 9/48 (2006.01) **A61K 9/127** (2006.01)
A61K 38/43 (2006.01) **A61P 25/16** (2006.01)
- (21) 출원번호 10-2011-7026893
(22) 출원일자(국제출원일자) 2010년04월13일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2011년11월11일
(86) 국제출원번호 PCT/US2010/030895
(87) 국제공개번호 WO 2010/120781
국제공개일자 2010년10월21일
- (30) 우선권주장
12/386,051 2009년04월13일 미국(US)
- (71) 출원인
큐어마크 엘엘씨
미국 10580 뉴욕주 라이 스위트 206 사우스 테오
도어 프램드 애비뉴 411
- (72) 발명자
폴린, 조안, 엠.
미국 10708 뉴욕주 브론스빌 미들랜드 애비뉴
1180
헤일, 매튜
미국 06784 코네티컷주 서먼 팀버 레이크 로드 47
- (74) 대리인
양영준, 양영환

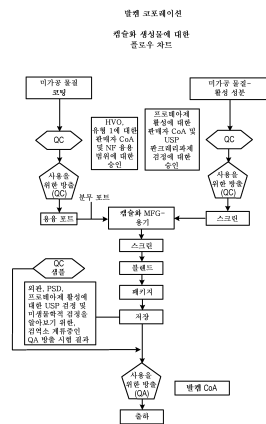
전체 청구항 수 : 총 59 항

(54) 효소 전달 시스템, 및 제조 및 사용 방법

(57) 요약

본 발명은 코팅된 소화 효소 제제, 및 이러한 제제를 포함하는 효소 전달 시스템 및 제약 조성물에 관한 것이다. 본 발명은 추가로, ADD, ADHD, 자폐증, 낭성 섬유증 및 다른 행동 및 신경계 장애가 있는 사람을 치료하기 위한 상기 시스템, 제약 조성물 및 제제의 사용 및 제조 방법에 관한 것이다.

대표도 - 도7



특허청구의 범위

청구항 1

- (a) 소화 효소 입자를 함유하는 코어; 및
- (b) 유화가능한 지질을 포함하는 코팅

을 포함하며, 상기 코팅은 코어를 지속적으로 코팅하고, 유화가능한 지질은 용매에 대한 노출시 유화되고, 상기 효소는 입자의 약 5 내지 95 중량%의 양으로 존재하는 것인,

캡슐화 소화 효소 제제.

청구항 2

제1항에 있어서, 코어가 자폐증, ADD, ADHD, 파킨슨병, 낭성 섬유증, 또는 췌장 또는 소화 효소에 의한 치료에 대해 감수성인 다른 신경계 질환 또는 행동 장애로 인해 고통받고 있는 대상체를 치료하는 데에 유효한 양의 췌장 또는 소화 효소를 추가로 포함하는 것인 제제.

청구항 3

제1항에 있어서, 코어가 약 105 μm 이상 내지 최대 약 425 μm 인 제제.

청구항 4

제1항에 있어서, 코어가 최대 40 메쉬 및 적어도 140 메쉬가 되도록 이동되는 제제.

청구항 5

제1항에 있어서, 에어로졸화될 수 없는 제제.

청구항 6

제1항에 있어서, 지질이 수소화 대두유, 수소화 피마자 왁스 및 카르나우바 (carnauba) 왁스로부터 선택되는 것인 제제.

청구항 7

제1항에 있어서, 효소의 약 80% 이상이 pH 6.0에서 수행된 용해 시험에서 30분까지 방출되는 제제.

청구항 8

제1항에 있어서, 코팅이 본질적으로 하나 이상의 모노글리세리드로 이루어지는 것인 제제.

청구항 9

제1항에 있어서, 코팅이 모노글리세리드를 포함하는 것인 제제.

청구항 10

자폐증, ADD, ADHD, 파킨슨병, 낭성 섬유증, 또는 췌장 또는 소화 효소에 의한 치료에 대해 감수성인 다른 신경계 질환 또는 행동 장애로 인해 고통받고 있는 대상체를 치료하는 데에 유효한 양의 췌장 또는 소화 효소를 포함하는 코어; 및

유화가능한 지질을 포함하는 코팅

을 포함하는 캡슐화 효소 제제의 치료 유효량을 포함하는 제약 조성물.

청구항 11

제10항에 있어서, 캡셀제, 정제, 배주 (ovule), 좌제, 와퍼, 씹을 수 있는 정제, 불 정제, 설하 정제, 신속히

용해되는 정제, 발포 정제, 과립제, 펠릿, 비드, 환제, 사쇄, 스프링클, 필름, 건조 시럽, 재구성가능한 고체, 현탁제, 로젠지제, 트로키제, 이식제, 산제, 습제 (triturate), 혈소판 또는 스트립 형태의 제약 조성물.

청구항 12

입자의 약 5 내지 95 중량%의 양으로 존재하는 핵장 또는 소화 효소를 포함하는 코어; 및
 유화가능한 지질을 포함하는, 상기 효소의 제어 방출을 제공해 주는 일반적으로 균일한 코팅
 을 포함하는 에어로졸화될 수 없는 입자를 갖는 캡슐화 효소 제제를 포함하는 효소 전달 시스템.

청구항 13

제12항에 있어서, 코어가 자폐증, ADD, ADHD, 파킨슨병, 낭성 섬유증 및/또는 다른 신경계 질환으로 인해 고통 받고 있는 대상체를 치료하는 데에 유효한 양의 핵장 또는 소화 효소를 추가로 포함하며, 상기 이러한 효소는 입자의 약 5 내지 95 중량%의 양으로 존재하는 것인 효소 전달 시스템.

청구항 14

제1항, 제10항 및 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 유화가능한 지질이 캡슐화 효소 제제 중에 약 5, 30 또는 50 중량%로 존재하는 것인 효소 제제, 제약 조성물 또는 효소 전달 시스템.

청구항 15

제1항, 제10항 및 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 캡슐화 효소 제제에 존재하는 핵장 또는 소화 효소의 양이 캡슐화 효소 제제의 약 5 내지 95 중량%인 효소 제제, 제약 조성물 또는 효소 전달 시스템.

청구항 16

제1항, 제10항 및 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 캡슐화 효소 제제에 존재하는 효소의 양이 캡슐화 효소 제제의 약 80 중량%인 효소 제제, 제약 조성물 또는 효소 전달 시스템.

청구항 17

제1항, 제10항 및 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 캡슐화 복합물에 존재하는 효소의 양이 캡슐화 효소 제제의 약 70 중량%인 효소 제제, 제약 조성물 또는 효소 전달 시스템.

청구항 18

제1항, 제10항 및 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 캡슐화 복합물에 존재하는 효소의 양이 캡슐화 효소 제제의 약 70 내지 90 중량%이고, 유화가능한 지질이 수소화 대두유, 수소화 피마자 왁스 또는 카르나우바 왁스인 효소 제제, 제약 조성물 또는 효소 전달 시스템.

청구항 19

제1항, 제10항 및 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 캡슐화 효소 제제가 입자를 함유하고, 추가로 캡슐화 효소 제제 중의 캡슐화 효소 제제 입자의 약 90% 이상이 약 #40 내지 #140 메쉬 크기 또는 약 105 내지 425 μm 이거나 또는 입자의 약 75% 이상이 약 #40 내지 #80 메쉬 크기 또는 약 180 내지 425 μm 인 효소 제제, 제약 조성물 또는 효소 전달 시스템.

청구항 20

제1항, 제10항 및 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 캡슐화 효소 제제가 입자를 함유하고, 추가로 캡슐화 효소 제제 입자의 약 20% 미만 또는 약 15% 미만이 약 #100 메쉬를 통하여 체질될 수 있거나 약 150 μm 일 수 있는 효소 제제, 제약 조성물 또는 효소 전달 시스템.

청구항 21

제12항에 있어서, 사쇄 또는 파우치를 추가로 포함하는 효소 전달 시스템.

청구항 22

제1항, 제10항 및 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 유화가능한 지질이 하나 이상의 친수성 기 및 하나 이상의 소수성 기를 포함하는 것인 효소 제제, 제약 조성물 또는 효소 전달 시스템.

청구항 23

제22항에 있어서, 지질이 친수성 및 소수성 계면을 형성할 수 있는 것인 효소 제제, 제약 조성물 또는 효소 전달 시스템.

청구항 24

제23항에 있어서, 계면이 미셀 (micelle) 계면인 효소 제제, 제약 조성물 또는 효소 전달 시스템.

청구항 25

제24항에 있어서, 계면이 이중층 계면인 효소 제제, 제약 조성물 또는 효소 전달 시스템.

청구항 26

제22항에 있어서, 유화가능한 지질이 동물 또는 식물성 기원으로부터 유래되는 것인 효소 제제, 제약 조성물 또는 효소 전달 시스템.

청구항 27

제26항에 있어서, 지질이 팜핵유, 대두유, 면실유, 카놀라유 및 가금류 지방, 수소화 대두유, 수소화 피마자 왁스, 및 카르나우바 왁스로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 효소 제제, 제약 조성물 또는 효소 전달 시스템.

청구항 28

제1항, 제10항 및 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 유화가능한 지질이 수소화, 포화 또는 부분 포화되는 것인 효소 제제, 제약 조성물 또는 효소 전달 시스템.

청구항 29

제1항, 제10항 및 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 유화가능한 지질이 본질적으로 수소화 대두유로 이루어지는 것인 효소 제제, 제약 조성물 또는 효소 전달 시스템.

청구항 30

제1항, 제10항 및 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 유화가능한 지질이 모노글리세리드, 디글리세리드, 지방산, 지방산의 에스테르, 인지질, 그의 염, 및 그의 조합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 효소 제제, 제약 조성물 또는 효소 전달 시스템.

청구항 31

제1항, 제10항 및 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 유화가능한 지질이 식품 등급의 유화가능한 지질인 효소 제제, 제약 조성물 또는 효소 전달 시스템.

청구항 32

제31항에 있어서, 식품 등급의 유화가능한 지질이 소르비탄 모노스테아레이트, 소르비탄 트리스테아레이트, 칼슘 스테아로일 락틸레이트, 또는 칼슘 스테아로일 락틸레이트로부터 포함되는 것인 효소 제제, 제약 조성물 또는 효소 전달 시스템.

청구항 33

제22항에 있어서, 지방산 에스테르가 모노- 및 디글리세리드의 아세트산 에스테르, 모노- 및 디글리세리드의 시트르산 에스테르, 모노- 및 디글리세리드의 락트산 에스테르, 지방산의 폴리글리세롤 에스테르, 지방산의 프로필렌 글리콜 에스테르, 및 모노- 및 디글리세리드의 디아세틸 타르타르산 에스테르로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 효소 제제, 제약 조성물 또는 효소 전달 시스템.

청구항 34

제10항 또는 제12항에 있어서, 효소의 약 80% 이상이 pH 6.0에서 수행된 용해 시험에서 30분까지 방출되는 제약 조성물 또는 효소 전달 시스템.

청구항 35

제1항, 제10항 및 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 코어가 캡슐화, 압축, 압출 또는 성형으로 이루어진 균으로부터 선택된 기술에 의해 처리되는 것인 효소 제제, 제약 조성물 또는 효소 전달 시스템.

청구항 36

- (a) 소화 효소 입자를 제공하는 단계;
- (b) 이러한 소화 효소 입자를 유화가능한 지질로 코팅시켜 캡슐화 소화 효소 제제를 형성하는 단계를 포함하며, 상기 효소의 약 80%가 pH 6.0에서 수행된 용해 시험에서 30분까지 방출되는 것인, 용매에 대한 노출시 캡슐화 소화 효소 제제로부터의 소화 효소의 방출 속도를 제어하는 방법.

청구항 37

- (a) 소화 효소 입자를 제공하는 단계;
- (b) 유화가능한 지질을 일정량의 하나 이상의 첨가제와 블렌딩하여 지질 블렌드를 수득하는 단계; 및
- (c) 소화 효소 입자를 상기 지질 블렌드로 코팅하여 캡슐화 소화 효소 제제를 형성시키는 단계를 포함하며, 여기서 유화가능한 지질과 첨가제는 동일한 것이 아니고, 캡슐화 복합물로부터의 소화 효소의 방출 속도는 첨가제의 양이 증가함에 따라 감소되는 것인, 용매에 대한 노출시 캡슐화 복합물로부터의 소화 효소의 방출 속도를 제어하는 방법.

청구항 38

- (a) 소화 효소 입자를 제공하는 단계;
- (b) 유화가능한 지질을 일정량의 하나 이상의 첨가제와 블렌딩하여 지질 블렌드를 수득하는 단계; 및
- (c) 소화 효소 입자를 상기 지질 블렌드로 코팅하여 캡슐화 소화 효소 제제를 형성시키는 단계를 포함하며, 여기서 유화가능한 지질과 첨가제는 동일한 것이 아니고, 캡슐화 복합물로부터의 소화 효소의 방출 속도는 첨가제의 양이 감소함에 따라 증가되는 것인, 용매에 대한 노출시 캡슐화 복합물로부터의 소화 효소의 방출 속도를 제어하는 방법.

청구항 39

제36항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 유화가능한 지질이 수소화 대두유인 방법.

청구항 40

제36항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 입자가 약 105 μm 이상 내지 최대 약 425 μm 인 방법.

청구항 41

- (a) 소화 효소 입자를 제공하는 단계; 및
- (b) 소화 효소 입자를 유화가능한 지질로 코팅하여 캡슐화 소화 효소 제제를 형성시키는 단계를 포함하며, 여기서 캡슐화 소화 효소 제제는 본질적으로 약 150 μm 미만의 입자로 이루어지는 것인, 용매에 대한 노출시 캡슐화 소화 효소 제제로부터의 소화 효소의 방출 속도를 제어하는 방법.

청구항 42

자폐증, ADD, ADHD, 파킨슨병, 낭성 섬유증, 또는 소화 효소를 이용한 치료에 대해 감수성인 다른 행동 또는 신경계 질환이 있는 대상체에게,

- (a) 소화 효소를 포함하는 코어; 및
- (b) 유화가능한 지질을 포함하는 코팅

을 포함하는 캡슐화 소화 효소 제제의 치료 유효량을 포함하는 조성물의 2회 이상의 용량을 투여하는 것을 포함하는 치료 방법.

청구항 43

자폐증, ADD, ADHD, 파킨슨병, 낭성 섬유증, 또는 소화 효소를 이용한 치료에 대해 감수성인 다른 행동 또는 신경계 질환이 있는 대상체에게, 효소의 약 80%가 pH 6.0에서 수행된 용해 시험에서 30분까지 방출되는 캡슐화 효소 제제의 2회 이상의 용량으로 소화 효소를 투여하는 방법.

청구항 44

사체 또는 파우치 내에 수용된 분말형 제제를 제공하는 단계를 포함하며, 상기 제제는 음식물 또는 음료수에 대한 첨가, 구강 내로의 직접적인 투여, 또는 NG-튜브, G-튜브 또는 다른 GI 입구 또는 전달을 통한 GI 계 내로의 직접적인 투여에 의해 투여되는, 캡슐화 소화 효소 제제를 포함하는 사체 또는 파우치를 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 방법.

청구항 45

제42항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 캡슐화 소화 효소 제제가 하나의 부형제만을 함유함으로써, 투여 안전성이 증가되는 방법.

청구항 46

제45항에 있어서, 부형제가 수소화 대두유인 방법.

청구항 47

제45항에 있어서, 캡슐화 소화 효소 제제가 저알레르기성인 방법.

청구항 48

제44항에 있어서, 소화 효소를 이용한 치료에 대해 감수성인 개체가 효소 결핍증을 갖는 것인 방법.

청구항 49

제48항에 있어서, 개체가 효소 결핍증을 갖는 지를 결정하는 것은 생화학적 마커를 이용하여 수행되는 방법.

청구항 50

제49항에 있어서, 생화학적 마커가 FCT 수준인 방법.

청구항 51

제49항에 있어서, 생화학적 마커가 MET 유전자 돌연변이인 방법.

청구항 52

제48항에 있어서, 개체가 위장 기능 이상의 병원성 마커를 갖는 것인 방법.

청구항 53

- (a) 캡슐화하기에 적합한 크기의 입자를 수득하기 위해 코팅되지 않은 소화 효소 입자를 스크리닝하는 단계; 및
- (b) 이와 같이 스크리닝된 소화 효소 입자를 유화가능한 지질로 코팅시켜, 소화 효소를 함유하는 코어, 및 유화가능한 지질을 함유하는 코팅을 함유하는 캡슐화 소화 효소를 형성시키는 단계

를 포함하는, 자폐증, ADD, ADHD, 파킨슨병, 낭성 섬유증 및 다른 신경계 질환이 있는 개체를 치료하는 데 유용한 증강된 유동 특성을 지닌 캡슐화 제어 방출 소화 효소 제제의 제조 방법.

청구항 54

- (a) 약 105 내지 450 마이크로미터 범위의 소화 효소 입자를 수득하는 단계; 및
- (b) 웨장/소화 효소를 유화가능한 지질로 코팅시켜, 웨장/소화 효소를 함유하는 코어, 및 유화가능한 지질의 블렌드를 함유하는 코팅을 함유하는 캡슐화 웨장/소화 효소를 형성시키는 단계

를 포함하는, 자폐증, ADD, ADHD, 파킨슨병, 낭성 섬유증 및 다른 신경계 질환이 있는 개체를 치료하는 데 유용한 캡슐화 제어 방출 소화 효소 제제의 제조 방법.

청구항 55

제53항에 있어서, 스크리닝된 효소 입자가, 소화 효소 입자를 40 메쉬 및 140 메쉬를 이용하여 체질 (sieving) 함으로써 수득되는 방법.

청구항 56

제54항에 있어서, 효소 입자가, 소화 효소 입자를 40 메쉬 및 140 메쉬를 이용하여 체질함으로써 수득되는 방법.

청구항 57

제53항 또는 제54항에 있어서, 유화가능한 지질이 수소화 대두유인 방법.

청구항 58

- (a) 유화가능한 지질을 하나 이상의 첨가제와 블렌딩하여 블렌드를 수득하는 단계;
- (b) 스크리닝된 소화 효소 입자를 수득하는 단계;
- (c) 웨장/소화 효소를 지질 블렌드로 코팅시켜, 웨장/소화 효소를 함유하는 코어, 및 유화가능한 지질의 블렌드를 함유하는 코팅을 함유하는 캡슐화 웨장/소화 효소를 형성시키는 단계; 및
- (d) 주기적 시간 간격 하에 분무 공정 동안 배치 및 오일 온도를 조정함으로써, 상기 공정 동안 최적의 분무 조건을 유지시키는 단계

를 포함하는, 자폐증, ADD, ADHD, 파킨슨병, 낭성 섬유증 및 다른 신경계 질환이 있는 개체를 치료하는 데 유용한 캡슐화 제어 방출 소화 효소 제제의 제조 방법.

청구항 59

제58항에 있어서, 스크리닝된 효소 입자가 약 105 내지 450 마이크로미터 범위인 방법.

명세서

기술분야

[0001] **관련 출원에 관한 참조**

[0002] 본 출원은 35 U.S.C. § 120 하에 2009년 4월 13일에 출원된 미국 특허 출원 제12/386,051호를 우선권 주장하며, 이는 그 전문이 본원에 참고로 포함된다.

[0003] **발명의 분야**

[0004] 본 발명은 일반적으로, 코팅된 소화/웨장 효소 제제, 및 이러한 제제를 포함하는 제약 조성물 및 효소 전달 시스템 뿐만 아니라 이들의 제조 방법, 효소를 이용한 치료에 대해 감수성인 신경계 또는 행동 질병 또는 질환이 있는 개체를 치료하는 데에 있어서의 사용 방법 및 제어 전달 방법에 관한 것이다.

배경 기술

- [0005] 소화 효소는 타액선, 위 내의 선, 췌장, 및 소장 내의 선에 의해 생성된다. 예를 들어, 췌장에 의해 생성되어 위 및 소장 내로 분비된 소화 효소는 소화를 도와준다. 췌장에 의해 생성된 소화 효소는 십이지장, 또는 소장의 상부 절편 (여기서는, pH가 약 5 내지 6이다) 내로 분비되고, 상기 효소는 탄수화물, 지질, 단백질 및 핵산을 포함한 음식물 성분의 소화를 촉진시킨다. 그러나, 소화 효소를 경구 투여하는 경우에는, 이들 효소가 위 내의 고도로 산성인 조건 (pH 약 1 내지 2) 뿐만 아니라 상기 효소를 변성 및 분해시키는 위 프로테아제에 노출된다.
- [0006] 소화 효소는 췌장에 악영향을 미치는 질환에 의해 유발된 효소 결핍증, 예컨대 췌장염 및 췌장 효소 결핍증을 치료하기 위해 포유동물에게 투여되어 왔다. 인간에게 투여된 췌장 효소는 통상적으로 돼지 기원의 것이다. 효소 제제의 제조업자들은 리파제의 투여를 요구하는 낭성 섬유증 개체에게서 리파제 조성물에 대한 장용 제피를 사용하기도 하였다. 리파제 전달을 위한 제제는, 예를 들어 히프로멜로스 프탈레이트, 디메티콘 1000, 및 디부틸 프탈레이트를 함유하는 장용 제피를 사용하여 왔다.
- [0007] 민감성 생물활성 물질을 코팅시키기 위한 특정 방법이 보고되었다. 미국 특허 제6,261,613호 (Narayanaswamy et al.)에는 베타 프라임 형태의 지방 셀 (즉, 블록형 대칭을 갖는 트리글리세리드 결정) 내에 코팅된, 효모를 함유할 수 있는 입자가 기재되어 있다. 코팅 물질은 수소화 식물성 오일 내에서 발견된 것과 같은 유화제를 추가로 함유할 수 있다. 그러나, 이러한 코팅은 약 40°C 내지 약 55°C의 제한된 온도 범위 내에서의 효모 방출만을 허용한다. 미국 특허 제6,251,478 B1호 (Pacifico et al.)에는 지질 물질 내에 캡슐화된 특정 생물활성 화합물을 포함한 특정 민감성 물질이 기재되어 있다.
- [0008] 배경기술 섹션 내의 어떠한 기재 내용도 이러한 개시내용이 본 발명에 대한 선행 기술 분야를 구성한다는 것을 승인하는 것으로 간주되어서는 안된다.

발명의 내용

- [0009] <발명의 개요>
- [0010] 본 발명은 자폐증, ADD, ADHD, 파킨슨병 (Parkinson's disease), 낭성 섬유증, 다른 신경계 및 행동 질병 또는 질환이 있는 개체를 치료하는 데에 유용한, 코팅된 소화 효소 제제, 및 코팅된 소화 효소 제제를 포함하는 제약 조성물 및 효소 전달 시스템에 관한 것이다. 본 발명의 코팅된 및 캡슐화된 소화 효소 제제는 안정성이 증가되고 투여 특성이 증강된 효소를, 소화 효소를 이용한 치료에 대해 감수성인 신경계 및 행동 질병 및 질환이 있는 환자에게 제어 전달할 수 있게 해준다.
- [0011] 일부 측면에서, 본 발명은 소화 및/또는 췌장 효소를 포함하는 코어 및 유화가능한 지질을 포함하는 코팅을 포함하는 코팅된 및/또는 캡슐화된 췌장/소화 효소 제제에 관한 것이다. 상기 코어는, 예를 들어 자폐증, ADD, ADHD, CF 및 파킨슨병과 같은 신경계 장애, 또는 유효량의 췌장/소화 효소를 투여할 수 있는 다른 질병일 수 있는 환자의 질환을 치료하는 데에 유효한 양의 췌장/소화 효소를 함유한다. 다른 특성들 중에서, 코팅은 용매, 열, 광, 수분 및 다른 환경적 요인과 같은 탈안정화 요인으로부터 췌장/소화 효소를 보호시켜 준다. 코팅은 또한, 복합물을 용매에 노출시킨 경우에 췌장/소화 효소의 제어 방출을 제공해준다. 또한, 본 발명의 한 측면에서, 본 발명의 코팅된 소화 효소 제제는 소화 효소 입자의 개선된 미각 및 후각, 및 개선된 주입 특성을 지닌다.
- [0012] 본 발명은 또한, 파킨슨병, ADD, ADHD, 자폐증 및 낭성 섬유증, 및 다른 행동 또는 신경계 질환 및 질병이 있는 개체에게서 효소 투여를 위한 효소와 지질의 특이적 블렌드에 관한 것이다. 코팅된 소화 효소 제제를 사용하여 선택된 통과 시간 하에서 또는 인간의 위장관의 선택된 위치에서의 방출을 수득할 수 있다. 한 측면에서, 본 발명은 제어 방출 효소 제제에 관한 것이다.
- [0013] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 소화 효소 입자를 함유하는 코어 (효소는 입자의 약 5 내지 90 중량%의 양으로 존재한다); 및 (b) 유화가능한 지질을 포함하는 코팅 (이러한 코팅은 코어를 지속적으로 코팅하고, 유화가능한 지질은 용매에 대한 노출시 유화된다)을 포함하는 코팅된 소화 효소 제제에 관한 것이다.
- [0014] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 자폐증, ADD, ADHD, 파킨슨병, 낭성 섬유증, 또는 췌장 또는 소화 효소에 의한 치료에 대해 감수성인 다른 신경계 질환 또는 행동 장애로 인해 고통받고 있는 대상체를 치료하는 데에 유효한 양의 췌장 또는 소화 효소를 포함하는 코어; 및 (b) 유화가능한 지질을 포함하는 코팅을 포함하는, 치료 유효량의 캡슐화 효소 제제를 포함하는 제약 조성물에 관한 것이다.
- [0015] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 입자의 약 5 내지 95 중량%의 양으로 존재하는 췌장 또는 소화 효소를 포함하

는 코어; 및 (b) 상기 효소의 제어 방출을 제공해 주는 일반적으로 균일한 코팅 (이러한 코팅은 유화가능한 지질을 포함한다)을 포함하는 입자를 갖는 캡슐화 효소 제제를 포함하는 효소 전달 시스템에 관한 것이다. 한 측면에서, 이러한 효소 전달 시스템의 캡슐화 효소 제제 입자는 에어로졸화될 수 없다.

- [0016] 특정 측면에서, 본 발명에 따르는 효소를 제조하는 방법은, 예를 들어 제어 방출 속도, 에어로졸화의 감소 및 보다 안전한 투여, 스프링클/사체 전달 방법에 의해 투여될 수 있는 능력, 개선된 유동 특성, 증강된 저장 수명 및 저장 능력, 및 본원에 기재된 다른 특성을 특징으로 하는 코팅된 효소 제제를 생성시킨다. 다른 측면에서, 코팅된 효소 제제는 제작 및 패키징 공정, 예를 들어 파우치 및 사체에서의 패키징을 촉진시켜 주는 개선된 주입 특성을 갖는다.
- [0017] 일부 측면에서, 본 발명은 유화가능한 지질의 코팅 및 소화 효소 코어를 포함하는 특징의 코팅된 소화 효소 제제가 바람직한 방출 및 활성 프로파일을 갖고 있고, 자폐증, ADD, ADHD, 파킨슨병, 및 소화 효소를 이용한 치료에 대해 감수성인 다른 신경계 또는 행동 질환을 치료하기 위하여 GI 관을 따라 부위 시간 특이적 및/또는 위치 특이적 표적화 방출을 허용해준다는 놀랍고도 예상치 못한 발견에 기초한다. 일부 측면에서, 캡슐화된 췌장/소화 효소 제제는 인간 위장 (GI) 관 내에서 특이적 전달 시간 또는 특이적 영역을 획득하기 위해 제조된다. 다른 측면에서, 유화가능한 지질 조성은 수소화 대두유이지만, 적합한 모든 지질 또는 지질 블렌드일 수 있다.
- [0018] 본 발명은 추가로, 일부 측면에서, 예를 들어 효소의 분해 및/또는 변성을 저하시키기 위해 환경에 대항하여 보호된 보다 안정한 효소 제제에 관한 것이다. 이로써, 보다 정확한 용량의 효소 제제를 치료받고 있는 개체에게 전달할 수 있다. 일부 측면에서, 상기 코팅은 또한, 놀랍게도 위장 (GI) 시스템에서의 효소의 제어 방출을 제공하면서도, 효소 제제를 적당한 용매와 접촉시킨 경우에 유화를 제공할 수 있다. 용매 중에서의 코팅의 유화 특성은, 바람직하게는 GI 관 내의 선택된 위치에서 효소의 제어 방출을 허용해 주는데, 효소 활용이 가장 유효한 치료를 제공한다.
- [0019] 본 발명은 또한, 소화 효소의 지질 코팅 및/또는 캡슐화에 의한 효소 제제의 제조 방법에 관한 것이다. 이러한 방법은 유화가능한 지질을 제공하는 단계; 및 스크리닝된 췌장/소화 효소 입자를 지질로 코팅시키는 단계를 포함한다. 소화 효소는 코팅된 효소 제제 중량의 5 내지 95%를 차지한다.
- [0020] 본원에 기재된 바와 같이, 또 다른 측면에서 본 발명자들은 본 발명의 방법을 사용하여, 유화가능한 지질 단독으로 코팅시키거나 또는 지질 블렌드로 코팅시킨 소화 및/또는 췌장 효소를 포함하는 코팅된 소화 효소 제제를 생성시켜 효소의 제어 방출 속도를 달성할 수 있다는 (상기와 같이 캡슐화된 제제를 적합한 용매에 노출시키면 췌장/소화 효소의 방출이 증가된다) 놀라운 사실을 밝혀내었다. 본 발명자들은 본질적으로 하나 이상의 모노글리세리드로 이루어진 코팅을 갖는 캡슐화된 췌장/소화 효소 제제가, 0.1 N HCl에서의 방출에 대항하여 보호해 주면서도 물과 같은 용매에 대한 캡슐화 복합물의 노출시 췌장/소화 효소의 방출 증가를 나타낸다는 사실을 밝혀내었다.
- [0021] 본 발명은 추가로, 효소 제제를 투여하는 방법에 관한 것이다. 일부 측면에서, 상기 방법은 췌장/소화 효소를 코팅된 제제로서 투여하는 단계를 포함한다. 일부 측면에서, 본 발명은 소화 효소를 이용한 치료를 필요로 하는, 자폐증, ADD, ADHD, 파킨슨병, 낭성 섬유증 또는 다른 행동 또는 신경계 질환이 있는 대상체에게, 소화 효소를 포함하는 코어 및 유화가능한 지질을 포함하는 코팅을 포함하는 치료 유효량의 캡슐화 소화 효소 제제를 포함하는 조성물의 2회 이상의 용량을 투여하는 단계를 포함하는 치료 방법에 관한 것이다. 대상체가 유효량의 소화 효소를 이용한 치료를 필요로 하는지의 여부 결정은 해당 대상체에게 효소 결핍증이 있는지를 결정하는 것에 기초할 수 있다.
- [0022] 또한, 본 발명은 부형제, 담체, 첨가제 및/또는 증량제를 전혀 포함하지 않거나 보다 적게 포함하고/하거나 효소 제제에 용매 사용을 전혀 요구하지 않거나 보다 적은 용매 사용을 요구하는 췌장/소화 효소 복합물, 제제, 효소 전달 조성물 또는 시스템을 인간에게 전달하는 것에 관한 것이다. 일부 실시양태에서, 코팅은 본질적으로 수소화 대두유로 이루어진다. 이는 잠재적으로 독성인 물질에 대한 노출을 감소시킬 수 있고, 알레르기 형성가능성을 저하시킬 것이다. 본 발명은 추가로, 투여 안전성이 개선된 췌장 및/또는 소화 효소의 전달에 관한 것이다.
- [0023] 또한, 본 발명은 지질 캡슐화에 의해 효소 제제에 부여된 증강된 유동 특성으로부터 비롯되는 개선된 제작 방법에 관한 것이다. 췌장/소화 효소의 지질 캡슐화는 수분에 대한 지질 장벽을 형성시켜, 패키징 기계에서 캡슐화 효소 제제의 개선된 유동을 허용해 준다.
- [0024] 본 발명의 개요가 본원에 기재된 본 발명의 모든 측면의 완전하거나 소모적인 재검을 의미하지는 않는다. 본

발명의 다른 측면들은 본원에 제시된 추가의 설명으로부터 명백해질 것이다.

도면의 간단한 설명

[0025]

- 도 1은 처리시키지 않은 미가공의 소화 효소 입자의 전자 현미경 사진을 도시한 것이다.
- 도 2는 미가공의 소화 효소 제제를 체질 (sieving)하고 지질 코팅한 후 코팅된 효소 제제의 전자 현미경 사진을 도시한 것이다.
- 도 3은 y-축 상에 표시된 바와 같이, USSS 체 내로 통과될 수 있는 입자의 %를 수반한, 미가공의 소화 효소 입자에 대한 막대 그래프 입자 크기 분석을 도시한 것이다.
- 도 4는 미가공의 소화 효소 입자 내에서, 및 캡슐화 후, 70, 80 및 90 중량%의 소화 효소를 함유하는 코팅된 효소 제제에 대한 % 리파제 활성의 막대 그래프를 도시한 것이다.
- 도 5는 y-축 상에 표시된 시간에서, 70, 80 및 90 중량%의 소화 효소를 함유하는 효소 제제에 대한 % 효소 방출의 막대 그래프를 도시한 것이다.
- 도 6은 70 또는 80 중량%의 소화 효소를 함유하는 코팅된 효소 제제에서 입자 크기 분포도와 비교한 미가공의 소화 효소 입자의 입자 크기 분포도의 막대 그래프를 도시한 것이다.
- 도 7은 소화 효소 입자를 캡슐화하기 위해 사용될 수 있는 공정에 대한 플로우 차트를 도시한 것이다.
- 도 8은 작동 표준 (상부 라인), 회색제 (시간이 4분인 경우 상부로부터 세 번째로 시작하는 라인), HPLC에 사용된 이동 상 (4분째에 바닥 라인) 및 플라시보 (시간이 4분인 경우 상부 라인에 대해 두 번째)에 대한 시간 대 피크 면적 (mAU)의 크로마토그램 (이는 표준 트립신 피크를 방해하지 않는다는 것을 입증해준다)을 도시한 것이다.
- 도 9는 코팅된 소화 효소 제제에서 트립신을 측정하기 위해 HPLC를 이용하여 수득된 공지된 트립신 농도에 대한 샘플 농도 (mg/ml) 대 피크 면적 (mAU)의 그래프를 도시한 것이다.
- 도 10은 자폐증 증상을 나타내는 9명의 어린이에게서 측정된 분변 (fecal) 키모트립신 (FCT) 수준을 도시한 것이다.
- 도 11은 자폐증 증상을 나타내는 26명의 어린이에게서 측정된 FCT 수준을 도시한 것이다.
- 도 12는 46명의 어린이에게서 측정된 FCT 수준을 도시한 것이다. 이들 어린이 중에서 25명은 자폐증 증상을 나타낸 반면, 21명의 어린이는 자폐증 증상을 나타내지 않았다.
- 도 13은 320명의 연령-적합 어린이에게서 측정된 분변 키모트립신 수준을 도시한 것이다. 네이비 라인 (흑백으로 출력됨, 상부, 블랙 라인)은 공지된 질환 (유전적 및 다른 질환)이 있는 어린이에 대한 FCT 수준을 도시한 것이다. 퍼플 라인 (흑백으로 출력됨, 상부, 암회색 라인)은 공지된 어떠한 질환도 갖고 있지 않은 정상 어린이에 대한 FCT 수준을 도시한 것이다. 아쿠아 라인 (흑백으로 출력됨, 하부, 중간 회색 라인)은 자폐증에 걸린 어린이에 대한 FCT 수준을 도시한 것이다. 핑크 라인 (흑백으로 출력됨, 하부, 암회색 라인)은 ADHD에 걸린 어린이에 대한 FCT 측정치를 도시한 것이다. 옐로우 라인 (흑백으로 출력됨, 하부, 연회색 라인)은 ADD에 걸린 어린이에 대한 FCT 측정치를 도시한 것이다.
- 도 14는 기준선, 및 비오키스 (Viokas) 또는 울트라세 (Ultrase) 효소 대체물의 투여 후 30, 60, 90 및 120일째의 평균 분변 키모트립신 수준을 도시한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0026]

<바람직한 실시양태의 상세한 설명>

[0027]

전반에 걸쳐 기재된 바와 같이, 본 발명은 일부 실시양태에서, 자폐증, ADD, ADHD, 파킨슨병, 남성 섬유증, 다른 신경계 및 행동 질병 또는 질환이 있는 개체를 치료하는 데에 유용한, 코팅된 소화 효소 제제, 및 코팅된 소화 효소 제제를 포함하는 제약 조성물 및 효소 전달 시스템에 관한 것이다.

[0028]

자폐증 (종종 "전통적 자폐증"으로 지칭됨)은 자폐증 스펙트럼 장애 (ASD)로서 공지된 발생기 장애 군에게서 가장 흔한 질환이다. 자폐증은 사회적 상호작용 손상, 언어 및 비언어 의사소통 문제점, 및 이상하거나, 반복적이거나 심각하게 제한된 활동 및 관심사를 특징으로 한다. 다른 ASD에는 아스퍼거 증후군 (Asperger

syndrome), 레트 (Rett) 증후군, 소아기 붕괴성 장애, 및 별도로 지정되지 않은 전반적 발달 장애 (통상적으로, PDD-NOS로서 지칭됨)가 포함된다. 1,000명당 3명 내지 6명의 어린이가 자폐증에 걸리는 것으로 추정되었다.

- [0029] 주의력 결핍 과다활동 장애 (ADHD)는 미국에 거주하는 모든 어린이의 3 내지 5%에게서 발병하는 신경행동 장애이다. 이는 과제를 지속적으로 수행하고 연령에 적당한 역제를 발휘할 수 있는 사람의 능력 (인지력 단독 또는 인지력과 행동력 둘 다)을 방해한다. ADHD의 일부 경도 징후로는 지시 사항을 듣지 못하고, 자기 스스로 학교 공부를 준비할 수 없으며, 손과 발을 이용한 손장난을 하고, 너무 많이 말을 하며, 프로젝트를 하지 않고 미루며, 잡일 및 숙제를 완료하지 않고, 세부 사항에 대해 주의를 기울이고 반응하는 데에 문제가 있다. 여러 가지 유형의 ADHD가 있다: 대부분 주의력 장애 아유형, 대부분 과다활동-충동 아유형, 및 복합 아유형. ADHD는 통상적으로 어린이에게서 진단되지만, 이러한 상태가 성인 연령까지 지속될 수 있다.
- [0030] 파킨슨병 (PD)은 도파민-생산 뇌 세포의 상실과 연관이 있는 운동계 장애로 지칭되는 질환 군에 속한다. PD의 4가지 주요 증상은 손, 팔, 다리, 턱 및 안면 상의 떨림, 또는 진전 (trembling); 사지 및 몸통의 경직 또는 강직; 운동완만증 또는 움직임이 느림; 및 자세 불안정, 또는 균형 및 협동성 손상이다. 이들 증상은 보다 현저해지기 때문에, 환자들은 걷거나, 말하거나 또는 다른 간단한 과제를 완료하는 데에 어려움이 있을 수 있다. PD는 통상적으로, 50세 이상 사람에게서 발병한다. PD의 초기 증상은 감지하기 힘들고 점차적으로 발생한다. 일부 사람에게는 상기 질병이 다른 사람 보다 더 신속하게 진행된다. 질병이 진행됨에 따라, 대다수의 PD 환자에게서 발병하는 진전 또는 떨림은 일상 활동을 방해하기 시작할 수 있다. 다른 증상에는 우울증 및 기타 정신적 변화; 삼키고, 씹으며 말하는 데에 있어서의 곤란; 배뇨 문제 또는 변비; 피부 문제; 및 수면 장애가 포함될 수 있다.
- [0031] 낭성 섬유증 (CF)은 삶을 단축시키는 가장 흔한 유전적 질병 중의 하나이다. 미국에서는 4,000명 중 1명의 어린이가 CF를 갖고 태어난다. 이는 서유럽 집단 중에서 가장 흔하고; 지중해계 사람 22명 중의 1명이 CF에 대한 1개 유전자 보인자이므로, 이들 집단에서 가장 흔한 유전적 질병이다. CF는 유전자, 즉 낭성 섬유증 막관통 전도 조절인자 (CFTR) 내의 돌연변이에 의해 유발된다. 이러한 유전자의 생성물이 땀, 소화액 및 점액을 창출시키는 데에 있어서 중요한 클로라이드 이온 채널이다. CF가 없는 대부분의 사람은 CFTR 유전자의 2가지 작동 카피 (대립 유전자)를 갖고 있긴 하지만, 단지 1개 만이 낭성 섬유증을 예방하는 데에 필요하다. 낭성 섬유증은 폐, 간, 췌장 및 내장의 외분비 (점액) 선에 영향을 미쳐, 다중시스템 부전으로 인한 진행성 신체장애가 유발된다. CF는, 예를 들어 1) 빈번한 폐 감염을 유발시키는 농후한 점액 생성; 2) 성장 불량, 기름기 많은 대변, 및 지용성 비타민의 결핍을 유발시키는 췌장 효소의 분비 감소; 및 3) 정관의 선천성 양쪽 부재 질환으로 인한 남성의 불임증을 특징으로 할 수 있다. 종종, CF의 증상은 유아 및 소아기에서 나타난다. 태변성 장폐색증 (Meconium ileus)은 CF가 있는 신생아에게서 나타나는 전형적인 소견이다.
- [0032] 비-지질 장용 제피를 수반한 효소 제제를 사용하여, 효소 치료를 필요로 하는 낭성 섬유증이 있는 개체에게 리파제의 투여를 요구하는 개체 중의 리파제를 전달하였다. 또한, 팔론 (Fallon)은 자폐증, ADD, ADHD, 파킨슨병 및 다른 신경계 질병 또는 질환이 있는 어린이 및 다른 개체를 치료하는 데에 사용하기 위한 특정의 방법 및 효소 조성물을 보고하였다 (예를 들어, 본원에 그 전문이 제시된 바와 같이 본원에 참고로 포함된 미국 특허 제 7,138,123호, 제6,660,831호, 제6,632,429호, 제6,534,063호 참조).
- [0033] 인간 소화관의 성질은 소화 효소를 이용한 치료에 대해 감수성인 신경계 및 행동 질환 환자에게 소화 효소를 전달하기 위한 도전 과제를 창출시킨다. 소화관의 과정 전반에 따른 다수 온도 및 pH 변화는 특이적 전달을 불가능한 도전 과제로 만든다. 예를 들어, 1 정도로 낮은 pH는 위에서 접하게 되지만, 근위 소장에서는 신속하게 증가하여 보다 염기성인 pH 5 내지 6으로 된다. 예를 들어, 일반적으로 위에서의 pH는 대략 1.2이고, 십이지장에서의 pH는 약 5.0 내지 6.0이며, 공장에서의 pH는 약 6.8이고, 근위 회장에서 pH는 약 7.2이며, 원위 회장에서의 pH는 약 7.5이다. 근위 소장에서는 보다 염기성인 pH 5 내지 6이 되도록 신속하게 변화되는, 위에서의 낮은 pH는 해당 효소를 전달시켜야 하는 장소에 따라서 특이적 전달 방법을 필요로 한다.
- [0034] 예를 들어, 리파제의 투여를 요구하는 질환인 낭성 섬유증에 걸린 어린이에게는 리파제를 소장의 후반부에 전달해야 한다. 이와는 달리, 본 발명자들은 프로테아제를 이용한 치료를 필요로 하는 자폐증에 걸린 어린이에게는 이들 효소를 근위 소장에 전달해야 하는 것으로 결정하였다.
- [0035] 소화 효소를 전달하는 것 또한 도전 과제일 수 있는데, 이는 이러한 효소가 주위 실온에서 신속히 분해 및 변성될 뿐만 아니라 고온, 압력, 습도 및/또는 빛에 대한 노출시 분해 및 변성이 증강될 수도 있기 때문이다. 수분과 열은 함께, 효소를 신속하게 탈안정화시킬 수 있고, 그들의 유효성을 저하시키며, 저장 수명을 단축시켜 부정확한 투여를 유발시킬 수 있다. 상기 효소의 변성 또는 탈안정화는 활성 효소의 용량을 유효 치료에 필요한

양 미만으로 감소시킴으로써 그들의 유효성을 저하시킬 수 있다. 또 다른 한편, 활성 효소의 유효 수준을 보장하기 위해 용량을 증가시킴으로써 변성 또는 탈안정화를 상쇄시키기 위한 시도는 캡셀제 또는 다른 투여 형태를 과투여 또는 과충전시키는 위험을 유발시킬 수 있었다. 침투, 분해 등과 같은 불리한 조건으로부터 궤장/소화 효소를 보호하고 안정화시키기 위해, 이러한 궤장/소화 효소 (코어)를 유효가능한 지질을 함유하는 연속 코팅 내에 코팅 또는 캡슐화시킬 수 있다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 저장 수명이 개선된 신규 코팅된 효소 제제를 제공한다.

- [0036] 효소 제제의 제조업자들은 리파제의 투여를 요구하는 개체, 예컨대 낭성 섬유증에 걸린 개체에게 리파제를 전달하기 위해 장용 제피를 이용하여 왔다. 돼지 효소는 프로테아제, 리파제 및 아밀라제의 혼합물로 전달되고 이들 인간 소비용 조성물이 리파제 전달용으로 제조되었기 때문에, 히프로멜로스 프탈레이트, 디메티콘 1000 및 디부틸 프탈레이트와 같은 물질을 포함하는 이들 장용 제피를 사용하는 것이 소화관 내의 적당한 위치에서의 프로테아제의 전달을 불가능하게 한다. 현재 시판 중인 다른 모든 효소 제제는 이러한 제제 내에 이들 장용 제피 물질 및/또는 다른 첨가제 중의 하나 이상을 함유한다. 제조를 가능케 하는 일부 첨가제, 예컨대 유동 특성을 개선시키기 위한 첨가제는 효소 제제에 대한 환자 반응성 또는 민감성 위험을 추가로 유발시킬 수 있다.
- [0037] 한 실시양태에서, 본 발명은 코팅된 소화 효소 제제 및/또는 복합물을 포함하는데, 일부 실시양태에서 이는 캡슐화된 궤장/소화 효소 제제이다. 다른 측면에서, 본 발명은 코팅된 궤장/소화 효소 제제를 포함하는 제약 조성물 및 효소 전달 시스템을 포함한다. 이들 코팅되거나 캡슐화된 효소 제제는 궤장 또는 소화 효소 입자를 포함하는 코어, 및 유효가능한 지질을 포함하는 코팅을 함유한다.
- [0038] 소화/궤장 효소 제제 중의 코팅은 분해 및 변성에 대한 장벽을 창출시키고, 보다 정확한 수준의 활성 효소가 치료받고 있는 개체에게 도달하도록 할 수 있다. 본 발명의 지질 코팅은 물리적 장벽 뿐만 아니라 가수분해를 방지 및/또는 저하시키는 장벽을 허용함으로써 수분, 열, 습도 및 빛에 대한 노출에 대한 상당한 장벽을 제공한다. 코팅된 효소 제제는 지질 코팅에 의해 환경 내의 수분으로부터의 보호에 따른 결과로서 가수분해를 덜 진행한다. 본 발명의 결과로서, 장기간 동안 저장 조건 (예: 수분, 열, 산소 등)을 견딜 수 있으므로, 저장 수명을 연장시킬 수 있는 궤장/소화 효소가 제공된다. 캡슐화 효소 제제의 코팅은 환경으로부터 효소를 보호해주고, 코팅의 마멸 저항을 감소시키지 않으면서 용매 중에서의 유효를 제공한다. 따라서, 본 발명은 추가로, 보다 안정한 효소 제제에 관한 것이다.
- [0039] 따라서, 코팅된 효소 제제는 효소 투여량의 과충전을 감소시키고, 보다 정확한 용량의 효소를 자폐증, ADD, ADHD, 파킨슨병, 낭성 섬유증, 및 궤장 또는 소화 효소를 이용한 치료에 대해 감수성인 다른 신경계 또는 행동 질환 또는 질병이 있는 개체에게 전달하는 것을 증강시켜 준다.
- [0040] 또한, 자폐증 및 다른 질환이 있는 어린이 및 다른 개체는 종종, 음식물, 첨가제, 착색제, 및 약물 제제에 사용된 다른 담체, 부형제 또는 물질에 대하여 다중 민감성을 나타내기 때문에, 환자의 부작용 증상 또는 이환률을 잠재적으로 부가시킬 수 있는 알레르기 유발원, 및 다른 담체, 부형제, 증량제, 착색제 등의 사용을 피하는 효소 전달 시스템을 만드는 것이 도전 과제이다. 더우기, 매우 어린 어린이에게는 투여가 용이하고 내용성을 허용하는 효소 전달 시스템이 다른 무엇 보다 중요하다. 이들 효소 제제에 대한 사체 전달 시스템은 지금까지 달성된 바 없었다.
- [0041] 본 발명의 또 다른 측면은 어린이 및 치료받고 있는 다른 개체에게서 알레르기 유발원 및 다른 민감성 반응에 대한 가능성을 저하시키기 위해 증량제, 착색제, 염료, 유동 증강제 및 다른 첨가제를 사용하지 않으면서 효소 제제를 만드는 것이다. 일부 실시양태에서, 소화 효소를 놀랍게도 단일 지질 부형제로 캡슐화하여 특히 효소 활성의 체류, 투여 용이성, 내용성 및 투여 안전성을 개선시킬 수 있다는 사실이 밝혀졌다. 놀랍게도, 리파제를 함유하는 소화 효소 입자는 본질적으로 수소화 대두유 만으로 이루어진 코팅으로 성공적으로 캡슐화할 수 있다.
- [0042] 또한, 돼지 궤장/소화 효소는 절인/훈제 돼지고기와 유사한 상당한 냄새와 맛을 지니고 있다. 이러한 맛은 효소 대체를 취하는 일부 개체, 및 특히 어린이에게 강하고도 역겨울 수 있다. 지질 코팅을 부가하는 것은 효소 제제에 대한 상당한 미각 은폐를 제공하여 미각을 용인하게 할 수 있는데, 이는 지질 코팅에 냄새가 없고 맛이 없기 때문이다. 색, 염료, 향료, 수용체, 또는 다른 물질의 사용을 포함하지 않는, 상기 미각 은폐 방법을 사용하는 것이 불쾌하거나 바람직하지 못한 맛과 냄새를 지닌 약물의 투여에 바람직하다. 다른 실시양태에서, 본 발명은 맛과 냄새가 개선된 코팅된 소화 효소 제제에 관한 것이다.
- [0043] 일부 실시양태에서, 소화 효소 입자 코어 상의 코팅은 바람직하게 연속 코팅이다. "연속"이란 궤장/소화 효소

가 균일하게 보호된다는 것을 의미한다. 완전한 연속 코팅은 칩장/소화 효소를 둘러싸고 있거나 캡슐화한다. 캡슐화는 수분, 온도, 및 저장 동안 부딪히게 되는 조건과 같은 조건으로부터 칩장/소화 효소를 보호시켜 준다.

- [0044] 또한, 캡슐화는 칩장/소화 효소의 제어 방출을 제공하기도 한다. 용매 중에서의 코팅의 유화 특성은 위장계, 바람직하게 효소가 활용될 GI 관의 영역 내에서의 상기 효소의 제어 방출을 허용해 준다. 캡슐화 복합물의 코팅은 환경으로부터 효소를 보호해주고, 코팅의 마멸 저항을 감소시키지 않으면서 용매 중에서의 유화를 제공한다. 예를 들어, 프로테아제를 이용한 치료를 요구하는 질환의 경우에는, 효소의 프로테아제 부분의 방출이 근위 소장에서 필요함으로써, 30 내지 90분의 용해 프로파일을 갖는 지질 캡슐화가 불가피하다. 용해 프로파일은 약 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85 또는 90분일 수도 있다. 용해 프로파일은 당업자에게 공지된 방법 및 조건을 이용하여 획득할 수 있다. 예를 들어, 용해 프로파일은 pH 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10을 포함한 각종 pH에서 결정할 수 있다.
- [0045] 생물활성 물질의 방출 속도는 다음에 기재되는 바와 같은 첨가제를 부가함으로써 제어할 수도 있다. 해당 제제를 용매에 노출시킨 경우, 이러한 용매는 코팅 내의 진정시킬 수 있는 지질과 상호 작용하고 생물활성 물질의 방출 및 코팅의 유화를 가져다 준다.
- [0046] 본원에 사용된 바와 같은 "캡슐화"는 코팅이 칩장/소화 효소를 완전히 둘러싸고 있는 것을 의미한다. 캡슐화 입자 집단에서는, 캡슐화 입자의 방출 프로파일이 상당히 변경되지 않는 한은 캡슐화 효소 제제에 실질적으로 연속 코팅을 수반한 입자의 작은 부분 또는 오염물질이 포함될 수 있다. 코팅되거나 캡슐화된 입자는 이러한 코팅되거나 캡슐화된 소화 효소 제제 내에 하나의 코팅되거나 캡슐화된 소화 효소를 형성하기 위해 하나의 코팅에 덮힌 하나 이상의 소화 효소 입자를 함유할 수 있다.
- [0047] 본 발명은 또한, 신경계 또는 행동 장애, 예컨대 자폐증, ADD, ADHD, 파킨슨병, 남성 섬유증, 및 칩장 또는 소화 효소를 이용한 치료에 대해 감수성인 다른 행동 또는 신경계 질환 또는 질병을 치료하기 위한 효소 제제, 제약 조성물 및 전달 시스템의 제조 방법을 포함한다. "칩장 또는 소화 효소를 이용한 치료에 대해 감수성"이란 질병 또는 질환의 한 가지 이상의 증상이 유효량의 칩장 또는 소화 효소의 투여에 의해 경감, 치료 또는 저하될 수 있다는 것을 의미한다.
- [0048] 일부 측면에서, 본 발명은 소화 효소 입자를, 코팅된 소화 효소 제제에서 기존에 사용되지 않았던 지질로 코팅 시킴으로써 만들어진 선택된 코팅된 효소 제제의 생성에 관한 것이다. 유화가능한 지질과 효소의 독특한 혼합물은 칩장/소화 효소의 특정 성분을 GI 관의 통과 동안 선택된 시간에서 및/또는 선택된 위치로 전달될 수 있다. 일부 측면에서, 본 발명은 용해 프로파일에 기초하여 소화 효소를 인간에게 전달하는 방법에 관한 것이다.
- [0049] 유화가능한 지질은 모든 지질, 지질 혼합물, 또는 용매에 노출된 경우에 유화되고 지질이 특유의 저장 온도에서 고체가 될 수 있게 하는 용점을 갖고 있는 유화제와 지질의 블렌드이다. 유화가능한 지질은 식물성 또는 동물 유래된 지질일 수 있다. 일부 실시양태에서, 유화가능한 지질은 하나 이상의 모노글리세리드, 디글리세리드 또는 트리글리세리드, 또는 다른 성분, 예를 들어 수소화 식물성 오일 중에서 발견된 유화제로 본질적으로 이루어지거나 또는 이를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 지질은 비-극성 지질이다.
- [0050] 본원에 사용된 바와 같이, 동물 및/또는 식물성 "유래된" 지질에는 식물 또는 동물 공급원으로부터 유래되는 지방 및 오일의 구조를 기준으로 하여 합성적으로 생성되고/되거나 식물 또는 동물 공급원 및/또는 조직으로부터 유래되는 지방 및 오일이 포함될 수 있다. 지질 물질은 공지된 화학적 또는 기계적 공정에 의해 정련, 추출 또는 정제될 수 있다. 지질에 존재하는 특정 지방산 (필수 지방산으로 명명됨)이 포유동물 식이에 존재해야만 한다. 지질은 일부 실시양태에서, 유형 I USP-국민 처방식 식물성 오일을 포함할 수 있다.
- [0051] 본 발명에 사용된 소화 효소는 칩장에 의해 생성된 유형의 소화 효소의 모든 조합물일 수 있는데, 이에 칩장 공급원 또는 다른 공급원으로부터의 소화 효소가 포함되지만, 그에 제한되지 않는다. 본 발명의 범위는 돼지 기원의 칩장 효소에 제한되지 않지만, 다른 동물 또는 식물 기원의 것 뿐만 아니라 합성적으로 유래된 것일 수 있다. 소화 효소는 돼지-유래된 소화 효소와 같이 포유동물 공급원으로부터 유래될 수 있다. 이 효소에는 하나 이상의 효소가 포함될 수 있고, 식물 유래되거나, 합성적으로 유래되거나, 미생물, 효모 또는 포유동물 세포에서 재조합적으로 생성될 수 있고, 하나 이상의 공급원으로부터의 효소의 혼합물이 포함될 수 있다. 소화 효소에는, 예를 들어 함께 혼합된 하나 이상의 공급원으로부터의 하나 이상의 효소가 포함될 수 있다. 이에, 예를 들어 단일 소화 효소를 칩장 공급원으로부터 유래된 소화 효소에 부가하여, 선택된 질병 또는 질환에 대한 보다 효과적인 치료를 제공하는 적당한 수준의 특이적 효소를 제공하는 것이 포함된다. 소화 효소의 한 가지 공

급원은, 예를 들어 사이언티픽 프로테인 레보라토리즈 (Scientific Protein Laboratories)로부터 취득할 수 있다 (표 6 참조). 소화 효소는, 예를 들어 판크레아틴/판크레리파제 조성물일 수 있다. 한 실시양태에서, 소화 효소는 25 USP 단위/mg 프로테아제, 2 USP 단위/mg, 및 25 USP 단위/mg 아밀라제를 포함하거나 이들로 본질적으로 이루어진다. 용어 소화 효소는 체계에 의해 생성된 유형의 하나 이상의 효소를 지칭할 수 있다.

[0052] 본 발명에서 코어로서 사용된 소화 효소 입자에는 입자의 약 90%가 약 #40 내지 #140 USSS 메쉬 크기, 또는 약 105 내지 425 μm 인 소화 효소 입자, 또는 입자의 약 75% 이상이 약 #40 내지 #80 메쉬, 또는 약 180 내지 425 μm 크기인 소화 효소 입자가 포함된다. #40 내지 #140 메쉬 크기의 입자는 #40 메쉬는 통과하지만, #140 메쉬는 통과하지 못한다. 본 발명의 한 실시양태에서 코팅되거나 캡슐화된 소화 효소 입자는 #100 메쉬 (150 μm) 내로 체질될 수 있는 입자를 약 35, 30, 25, 20, 15 또는 10% 미만 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 용어 "에어로졸화될 수 없는"이란 입자의 약 20% 미만 또는 약 15% 미만이 #100 메쉬 (150 μm) 내로 체질될 수 있는 코팅되거나 캡슐화된 효소 제제를 지칭한다. 캡슐화 소화 효소 제제는 소화 효소 입자가 2개 이상의 효소를 함유하는 캡슐화 소화 효소 복합물일 수 있다.

[0053] 코어 내에 존재하는 체계 효소의 최소 양은 코팅된 효소 제제의 약 5 중량% 이상 활성 효소이지만, 다른 실시양태에서는 약 30 중량% 이상, 또는 약 50 중량% 이상이다. 복합물에 존재하는 체계/소화 효소의 최대 양은 코팅된 효소 제제의 최대 약 95 중량%이고, 다른 실시양태에서는 최대 약 90, 85, 80, 75 또는 70 중량%이다. 다른 실시양태에서, 복합물에 존재하는 체계 효소의 양은 약 10%, 15%, 20%, 25%, 35%, 40%, 45%, 55%, 60%, 65%, 70%, 72.5%, 75%, 77.5%, 80%, 82.5%, 87.5%, 또는 92.5% (중량) 또는 그 사이의 모든 값이다. 약 % 이상 효소 또는 최대 약 % 효소에는 해당 %의 효소와의 등가 또는 약 %가 포함될 수 있다. 용어 "약"에는 등가 값, 및 소정의 측정치에서 실험적 오차를 고려한 범위가 포함된다. 입자 크기와 연계해서 사용된 바와 같은 용어 "약"은 + 또는 - 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1%, 또는 그 사이의 모든 값을 지칭할 수 있다. 체질될 수 있는 % 입자와 연계해서 사용된 바와 같은 용어 "약"은 + 또는 - 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1%, 또는 그 사이의 모든 값을 지칭할 수 있다.

[0054] 캡슐화 소화 효소 제제 또는 복합물을 함유하는 조성물은 스프링클, 분말, 캡셀제, 정제, 펠릿, 카플렛 또는 다른 형태로서 전달할 수 있다. 단일 용량 사쇄-수용된 스프링클 제제를 추가로 포함하는 효소 전달 시스템에 대해 캡슐화 효소 제제를 패키징하는 것은 특이적 양의 효소가 각 투여시 전달되도록 함으로써 정확한 용량의 효소를 투여하게 해주고 전달을 용이하게 해준다. 효소 제제를 파손시키고 변성시키기 위한 공기, 수분 및 열을 고려한 다중-단위 투여 형태에 수용된 다른 스프링클 제제에 비해 증강시켜 주는, 효소 활성을 특이적 안정성 파라미터 내에 유지시키는 효소 제제의 특이적 단위 투여를 참작한다. 바람직한 실시양태에서, 분말 또는 사쇄는 삼층 호일 파우치 또는 유사한 장벽 내에 수용되어, 수분이 들어가지 않게 하고 불리한 환경적 요인으로부터 효소 제제를 보호시켜 준다. 본 발명은 추가로, 지질 캡슐화로 인한 가수분해 상의 감소 때문에 안정성이 개선되는 것에 관한 것이다.

[0055] 추가로, 지질 캡슐화 방법론은 폐 또는 코를 통하여 흡입된 경우에 어린이에게 부식성일 수 있는 효소 제제의 에어로졸화를 저하시켜 준다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 효소의 에어로졸화 양을 감소시킴으로써, 투여 안전성이 개선된 소화 효소의 전달을 포함한다. 지질 캡슐화는 효소 제제의 투여자 및 어린이에게서 부식 화상, 흡인, 및/또는 흡인 폐렴에 대한 잠재력 및 에어로졸화를 저하시킴으로써, 이미 기능 상실된 어린이, 예컨대 낭성 섬유증에 걸린 어린이에게서 질병 잠재력을 저하시키고 보다 안전한 투여를 유발시킨다.

[0056] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "에어로졸화될 수 없는"은 실질적으로 모든 입자가 코팅되지 않은 효소 입자와 비교해서 코팅된 효소 제제의 주입시 에어로졸화를 저하 또는 없애기에 충분히 큰 코팅되거나 캡슐화된 효소 제제를 지칭하기 위해 사용될 것이다. 예를 들어, 용어 "에어로졸화될 수 없는"은 입자의 약 90% 이상이 약 #40 내지 #140 메쉬 크기 또는 약 106 내지 425 μm 이거나, 또는 입자의 약 75% 이상이 약 #40 내지 #80 메쉬 또는 약 180 내지 425 μm 인, 코팅되거나 캡슐화된 효소 제제를 지칭할 수 있다. 용어 "에어로졸화될 수 없는"은 또한, 입자의 약 35, 30, 25, 20, 15 또는 10% 미만이 #100 메쉬 (150 μm) 내로 체질될 수 있는, 코팅되거나 캡슐화된 효소 제제를 지칭할 수 있다. 일부 실시양태에서, 용어 "에어로졸화될 수 없는"은 입자의 약 20% 미만 또는 약 15% 미만이 #100 메쉬 (150 μm) 내로 체질될 수 있는, 코팅되거나 캡슐화된 효소 제제를 지칭한다.

[0057] 본원에 기재되고 지칭되는 바와 같이, 적합한 체계/소화 효소 및 적합한 코팅을 본 발명의 조성물 및 방법에 사용할 수 있다. 효소 또는 코팅의 유형 또는 양의 선택을 포함한, 적합한 효소의 선택 및 적합한 지질 코팅의 선택은 개체의 특이적 효소 필요성, 및 치료하고자 하는 선택된 질병에 의해 결정된다. 본 발명의 한 측면인 캡슐화된 효소 제제는 기존에 보고된 바가 없다.

- [0058] 일부 실시양태에서, 본 발명은 인간 위장관 내에서의 통과 시간을 기초로 하여, 파킨슨병, ADD, ADHD, 자폐증, 낭성 섬유증, 및 소화/췌장 효소를 이용한 치료에 대해 감수성인 다른 신경계 및 행동 장애가 있는 개체에게 전달하기 위해 선택된 지질과 효소의 특이적 블렌드에 관한 것이다. 이는 추가로, 소화 효소의 각종 성분들에 대한 치료하고자 하는 환자의 필요성에 기초할 수 있다. 추가로, 본 발명은 구체적으로, 요구되는 전달 시간 및 용해 프로파일에 기초하여 인간에게 소화 효소를 전달하는 것의 개선에 관한 것이다.
- [0059] 특정 민감성 생물학적 물질을 코팅시키는 일반적인 방법인, 예를 들어 미국 특허 제6,251,478호 (본원에 참고로 포함된다)에 기재된 하였지만, 본 발명의 캡슐화 생물활성 물질은 다중 프로테아제, 리파제 및 아밀라제를 포함하거나 이들로부터 이루어진 소화 효소를 함유하는 코어, 및 유화가능한 지질을 포함하거나 이로 본질적으로 이루어진 코팅을 포함하는 효소 제제이다.
- [0060] 첨가제를 유화가능한 지질과 블렌딩할 수 있다. 지질(들) 및 첨가제의 선택은 생물활성 물질의 방출 속도를 제어할 것이다. 소화 및/또는 췌장 효소의 경우, 지질 코팅은 치료를 최적화하는 방출을 위해 선택된 소화관의 부위에 생물활성 물질이 방출되도록 독특하게 선택되어야만 한다.
- [0061] 본 발명은 추가로, 어린이 및 성인에게 용이하게 전달하기 위해 사취 또는 파우치 제제 내에서 코팅되고/되거나 캡슐화된 효소 제제를 투여하는 것에 관한 것이다. 일부 실시양태에서, 본 발명은 구체적으로, 사취 또는 파우치 내에 수용된, 코팅된 효소 입자 제제의 투여에 관한 것이다. 이는 음식물 또는 음료수 내에서의 투여, 구강 내로의 직접적인 투여, 또는 NG-튜브, G-튜브 또는 다른 GI 입구 또는 전달을 통한 GI 계 내로의 직접적인 투여를 포함하지만, 이에 제한되지 않는 투여를 촉진시킨다.
- [0062] 일부 실시양태에서, 각 용량은 약 100 내지 1500 mg의 코팅되거나 캡슐화된 효소 제제를 함유하고, 각 용량은 약 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1050, 1100, 1150, 1200, 1250, 1300, 1350, 1400, 1450, 또는 1500 mg의 코팅되거나 캡슐화된 효소 제제를 함유할 수 있다. "약"은 언급된 제제의 80 내지 125%를 포함할 수 있다. 각 용량은 언급된 중량의 + 또는 - 10% 일 수 있다. 한 실시양태에서, 각 용량은 약 156 이상 USP 단위/mg \pm 10%의 프로테아제 활성을 지닐 것이다. 프로테아제 활성은 약 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195, 또는 200 이상 USP 단위/mg일 수도 있다.
- [0063] 다른 실시양태에서, 본 발명은 자폐증, ADD, ADHD, 파킨슨병, 낭성 섬유증, 또는 소화 효소를 이용한 치료에 대해 감수성인 다른 행동 또는 신경계 질환에 걸린 대상체에게, 치료 유효량의 코팅된 소화 효소 제제를 포함하는 조성물의 2회 이상의 용량을 투여하는 단계를 포함하는 치료 방법에 관한 것이다. 특정 실시양태에서, 약 80%의 효소가 pH 6.0에서 수행된 용해 시험에서 약 30분까지 방출된다. 다른 실시양태에서, 효소의 약 80%가, 코팅된 소화 효소 제제가 소장 도달한 후 약 30분까지 방출된다.
- [0064] 본 발명의 또 다른 실시양태는 소화 효소를 인간에게 전달하기 위한 제제에 현재 사용되고 있는 부형제, 증량제 및 용매의 사용을 감소시킴으로써, 인간에 대한 효소의 전달을 개선시키는 것에 관한 것이다. 예를 들어, 캡슐화 소화 효소 제제는 알레르기 반응 기회를 감소시킴으로써 투여 안전성을 증가시키는 하나의 부형제만을 함유할 수 있다. 한 실시양태에서, 이러한 부형제는 수소화 대두유이다.
- [0065] 일부 실시양태에서, 지질 캡슐화 방법은 유동을 촉진시키거나 안정성을 개선시키기 위해 용매, 증량제 및 부형제로 처리시켜야 하는 효소 제제를 요구하지 않기 때문에, 본 발명의 한 측면은 투여될 GRAS 물질 (일반적으로 안전한 것으로 간주된다)의 "클린" 제제를 포함한다. 본 발명의 방법에 의해 허용된, 용매, 증량제 부형제 및 다른 첨가제의 사용 감소는 효소 대체물을 취한 개체가 잠재적 알레르기 유발원에 노출되는 것을 저하시킴으로써, 그렇지 않았으면 치료에 대한 알레르기 반응이 발생할 지도 모르는 개체를 치료하는 데에 있어서 그의 잠재적 사용을 추가로 증강시켜 주는 저알레르기성 효소 제제를 생성시킨다. 따라서, 본 발명의 코팅된 효소 제제를 투여하면, 잠재적으로 독성인 물질에 대한 노출이 감소될 수 있고, 또한 알레르기 형성가능성이 저하될 것이다. 따라서, 일부 실시양태에서 캡슐화 소화 효소 제제는 저알레르기성이다.
- [0066] 본 발명은 추가로, 또 다른 측면에서 투여 안전성이 개선된 소화 효소의 전달에 관한 것이다. 지질 코팅은 효소 제제에 중량을 부가하여, 에어로졸화될 가능성을 감소시킨다. 기존의 코팅되지 않은 효소는 에어로졸화되는 것으로 밝혀졌으므로, 흡입되어 비강 또는 폐와 접촉하여 이러한 효소 제제를 취한 개체 및 이를 투여받은 개체의 점막을 손상시킬 수 있다.
- [0067] 본 발명은 추가로, 어린이에게 전달하기 위한 사취 제제의 투여 개선에 관한 것이다. 본 발명은 구체적으로, 음식물 또는 음료수 내에서의 투여, 구강 내로의 직접적인 투여, 또는 NG-튜브, G-튜브 또는 다른 GI 입구를 통

한 GI 계 내로의 직접적인 투여를 포함하지만, 이에 제한되지 않는 투여의 특별한 유형을 감안하여 사체 내에 수용된, 코팅된 소화 효소 제제의 투여에 관한 것이다. 효소의 사체 전달을 사용하는 것은 현재 시판중인 효소 제제에서는 지금까지 활용되지 않았었다. 사체는 1일 동안 단위 투여량 또는 다중 용량을 나타내고, 단일 단위 용량을 나타낸다. 삼층 호일의 사체는 효소/지질 분말이 안정적으로 유지되도록 해주고, 투여 용이성을 고려한다.

[0068] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 용매에 대한 노출시 캡슐화 효소 제제로부터의 체장/소화 효소의 방출 속도를 제어하는 방법에 관한 것이다. 일부 측면에서, 상기 방법은 유효가능한 지질을 일정량의 하나 이상의 첨가제와 블렌딩하여 지질 블렌드를 수득하는 단계; 및 이러한 블렌드로 소화 효소 입자를 코팅하여, 이 효소를 함유하는 코어, 및 지질을 함유하는 코팅을 포함하는 입자를 함유하는 캡슐화 소화 효소 제제를 형성하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 유효가능한 지질은, 이러한 유효가능한 지질과 첨가제가 동일하지 않는 블렌드, 및 용매에 대한 노출시 캡슐화 복합물로부터의 효소의 방출 속도가 첨가제 양이 증가함에 따라 감소되는 블렌드이다. 대체 방안에서는, 용매에 대한 노출시 캡슐화 복합물로부터의 효소의 방출 속도가 첨가제 양이 감소함에 따라 증가한다.

[0069] 지질 코팅은 놀랍게도, 위에 존재하는 HCl (염산)에 의해 감소되거나 파괴되는 것으로 여겨지지 않으므로, 효소 제제가 GI 관 내의 그의 표적 영역에 도달할때까지는 해당 효소가 투여 후에 분해되지 못하게 한다. 추가로, 지질 코팅은 물에 의한 공격에 효소가 노출되는 것을 감소시킴으로써, 가수분해를 감소시키고, 추가로 소화 효소가 분해되지 못하게 한다. 또한, 본 발명자들은 지질 만을 함유하는 부형제를 사용하여, 리파제를 함유하는 소화 효소 입자를 코팅 또는 캡슐화할 수 있다는 사실을 밝혀내었다.

[0070] 특이적 질병표적을 치료하기 위해 소화 효소를 사용하는 것은 본 발명의 한 측면에서, 상이한 방출 특징을 지닌 캡슐화 소화 효소 복합물을 제조함으로써 가능해진다. 각종 신경계 및 행동 질병이 인간의 위장계에 각종 방식으로 강력한 영향을 미칠 수 있기 때문에, 특이적 효소 제제의 사용 및 그 다음의 캡슐화는 효소 제제의 어디로 얼마만큼의 시간 동안 전달되는 것에 관한 차이를 만들 수 있다.

[0071] 따라서, 본 발명은 구체적으로 필요한 전달 시간 및 용해 프로파일에 기초하여 인간에 대한 소화 효소의 전달을 개선시키는 것에 관한 것이다. 예를 들어, 본 발명의 특정 측면에서 방출 속도 및 용해 특징은 본 발명의 지질 캡슐화에 독특하다. 소화 효소를 이용한 치료에 대해 감수성인 행동 및 신경계 질환 및 질병의 치료를 최적화하기 위해 선택된 효소 및 지질을 사용하여 코팅된 소화 효소를 제조하는 것은 기존에 보고되지 않았다.

[0072] 한 예로서, 소화 및/또는 체장 효소에 대한 기존의 장용 제피는 프로테아제 부분을 근위 소장에 전달하기에 너무 긴 시간 동안 효소 혼합물의 방출을 지연시켰다. 예를 들어, 유효한 치료를 위해서는 리파제를 전달하는 것이 요구되는 낭성 섬유증 환자에 대한 투여에서는, 장용 제피 소화 효소의 용해 프로파일이 효소 방출에 있어서 보다 긴 지연 뿐만 아니라 고 리파제 제제의 전달을 선호할 필요가 있다.

[0073] 본 발명 이전에는, 지질 캡슐화가 낭성 섬유증에 걸린 개체를 치료하기 위해 리파제 전달을 위한 지연되고/되거나 보호성 기전으로서 사용되지 않았었다.

[0074] 본 발명자들은 유효한 치료를 위해 프로테아제 효소의 전달을 요구하는 자폐증 환자를 치료하기 위해서는, 지질 캡슐화물을 변형시켜, 보다 초기의 통과 시간대 동안 프로테아제를 근위 소장에 전달하여 단백질 소화를 최적화시킬 수 있다는 사실을 추가로 인식하였다. 또 다른 예에서, 본 발명자들은 신경계 질환의 자율신경 손상 성질로 인해 느린 GI 통과 시간을 갖는 파킨슨병 환자에 대해서는, 유효한 치료를 위해 효소를 전달하기 위해서는 여전히 또 다른 방출 프로파일이 요구된다는 것을 인식하였다. 투여 후 보다 늦은 시간에 효소를 방출시킬 지질 및/또는 첨가제를 선택할 것이다.

[0075] 소화 효소가 소화기계 내를 통과하는 시간이 지질을 적층시킴으로써 제어될 수 있거나 또는 특이적 지질 유형을 이용한 캡슐화를 통하여 제어될 수 있었다는 사실은 기존에 전혀 인지되지 않았다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 사람의 위장계 내에서의 통과 시간을 기초로 하여, 파킨슨병, ADD, ADHD, 자폐증 및 낭성 섬유증, 및 체장/소화 효소를 이용한 치료에 대해 감수성인 다른 행동 또는 신경계 질병 또는 질환이 있는 개체에게서의 전달을 위한 효소와 지질의 선택된 블렌드에 관한 것이다.

[0076] 본 발명은 추가로, 지질 캡슐화에 의해 부여된 증강된 유동 특성으로 인한 제작 상의 개선에 관한 것이다. 이러한 제작 상의 개선은 또한, 수분에 대한 지질 장벽으로 인한 체장/소화 효소의 지질 캡슐화를 통하여 달성될 수 있는데, 이로써 패키징 기구에 있어서의 개선된 유동을 고려할 수 있다. 개선된 유동 성질은 코팅된 소화 효소 제제를, 예를 들어 파우치 또는 사체 내로 패키징하는 것을 촉진시킬 수 있다.

- [0077] 한 측면에서, 본 발명은 특이적 질병 또는 질환을 치료하는 데에 사용하도록 표적화된 인간 위장 (GI) 관 내에서 특이적 전달 시간 동안 코팅된 소화 효소 제제를 만들기 위해 지질 캡슐화 방법을 사용하는 것에 관한 것이다. 이러한 질병 또는 질환은 GI 관의 적당한 영역에 소화 효소를 투여함으로써 치료할 수 있는 소화 부족을 특징으로 하거나 이에 의해 유발될 수 있다. 신경계 또는 행동 질병 또는 질환은 한 가지 이상 증상이 유효량의 체장 및/또는 소화 효소 제제를 투여함으로써 치료될 수 있는, 소화기계와 전통적으로 연관되지 않은 질병이다.
- [0078] 따라서, 본 명세서는 특이적 질병을 치료하는 데에 사용하도록 표적화된 특이적 효소의 지질 캡슐화에 관한 것이고, 이러한 캡슐화 방법에는 캡슐화 소화 효소 복합물을 제조하기 위해 본 발명의 방법에 사용된 지질의 양 및 유형이 포함된다. 본 발명은 또한, 체장 및/또는 소화 효소의 지질 코팅 및/또는 캡슐화에 의한 효소 제제의 제조 방법에 관한 것이다. 이 방법은 유효가능한 지질을 제공하는 단계, 및 체장/소화 효소 입자를 지질로 코팅하는 단계 (여기서, 체장/소화 효소는 코팅된 효소 제제의 5 내지 90 중량%를 차지한다)를 포함한다. 일부 측면에서, 코팅되지 않은 체장/소화 효소 입자는 크기 범위가 약 105 내지 425 μm 이다.
- [0079] 한 실시양태에서, 본 발명은 a) 캡슐화하기에 적합한 크기의 입자를 수득하기 위해 코팅되지 않은 소화 효소 입자를 스크리닝하는 단계; 및 b) 이와 같이 스크리닝된 소화 효소 입자를 유효가능한 지질로 코팅시켜, 체장/소화 효소를 함유하는 코어, 및 유효가능한 지질을 함유하는 코팅을 함유하는 코팅되거나 캡슐화된 소화 효소를 형성시키는 단계를 포함하는, 캡슐화 소화 효소 제제를 제조하는 방법에 관한 것이다. 일부 실시양태에서, 캡슐화 소화 효소 제제는 유동 특성이 증강될 수 있는 제어 방출 소화 효소 제제이다. 이러한 제제는 자폐증, ADD, ADHD, 파킨슨병, 낭성 섬유증 및 다른 신경계 질환이 있는 개체의 치료에 유용할 수 있다.
- [0080] 입자를 스크리닝하는 것은 소화 효소의 활성, 외관 또는 입자 크기를 개선시키기 위한 품질 관리 단계를 포함할 수 있다. 예를 들어, 입자를 분석하여 효소 활성 함량을 결정할 수 있고/있거나 크로마토그래피, 현미경 검사 또는 다른 분석 방법을 이용하여 가시화할 수 있다. 너무 미세하거나 너무 큰 입자를 제거함으로써 캡슐화에 적합한 크기의 입자를 수득하기 위해 입자를 스크리닝할 수도 있다. 예를 들어, 입자를 체질하여 캡슐화하기에 적합한 크기 또는 보다 균일한 크기 범위의 입자를 수득할 수 있다. 추가 예로서, 입자를 USSS #40 메쉬 및 USSS #140 메쉬 내로 걸릴 수 있다. #40 메쉬 내로는 통과되지만 #140 메쉬에 의해서는 유지되는 입자는 코팅 또는 캡슐화에 적당한 크기 범위이다. USSS #140, #120, #100, #80, #70, #60, #50, #45, 또는 #40 메쉬, 또는 그의 모든 조합 내로 걸림으로써 입자를 스크리닝할 수도 있다.
- [0081] API 공급업자에 의해 공급된 효소 제제는 불균등한 모서리와 더 많은 균집 및 일부 결정성 염 입자를 함유하는, 불규칙적인 외형의 다중-크기 입자로서 제공될 수 있다 (예를 들어, 도 1 참조). 불균등한 입자 크기와 외형은 유동 특성을 저하시키고, 패키징을 방해한다. 또한, 코팅되지 않은 효소를 개체의 입 내로 주입하는 것이 곤란할 수도 있고, 잠재적으로는 너무 많거나 너무 적은 효소가 전달될 수 있다. 본 발명의 한 측면에 따르는 방법에 따라서 소화 효소 입자를 처리하면, 사체 패키징 및 음식물 또는 음료수 상으로의 주입에 적합한 비-분진성의 자유-유동성 미립 제제가 산출된다. 또한, 전반적으로 논의된 바와 같이, 지질 캡슐화를 이용하여 에어로졸화를 방지하고, 이로써 안전성을 증가시키며, 약제의 제조를 증강시키는 유동 특성을 증가시키는 것이 본 발명의 특정 실시양태이다.
- [0082] 예시적 미가공 효소 제제에서의 입자의 크기 분포도가 도 3의 그래프에 도시되어 있다. 큰 입자 (>40 메쉬) 및 극히 작은 입자 (<140 메쉬)는 일반적으로, 적당한 캡슐화에 적합하지 않으므로, 스크리닝에 의해 제거할 수 있다. 캡슐화 체장 효소 제제의 유동 특성을 증가시키기 위하여, 소화 효소 입자를 체질하여, 예를 들어 크기 40 내지 140 메쉬 또는 약 105 내지 425 마이크로미터의 입자 만을 포함시킴으로써, 미세 입자 및 너무 큰 입자를 제거할 수 있다. 일부 실시양태에서, 80 중량%의 소화 효소를 함유하는 코팅된 소화 효소 제제는 체질된 체장 효소 입자를, 20 lbs의 효소 입자 및 5 lbs의 수소화 식물성 오일을 이용하여 수소화 식물성 오일로 코팅시킴으로써 만든다.
- [0083] 일부 실시양태에서, 지질 또는 지질 블렌드의 온도는, 가열되지 않은 소화 효소를 적용하기 전에 110°F에서 유지시킨다.
- [0084] 일부 실시양태에서, 지질은 제제 내에 캡슐화 복합물의 최소 약 5 중량%, 바람직하게 약 30 중량%, 보다 바람직하게 약 50 중량%의 양으로 존재해야 한다. 캡슐화 복합물에 존재하는 체장/소화 효소의 최대 양은 이러한 캡슐화 복합물의 약 95 중량%, 바람직하게 약 90 중량%, 보다 바람직하게 약 85 중량%이다. 유효가능한 지질은 에멀션을 창출 또는 유화시키지만, 전형적인 저장 온도, 예를 들어 23°C에서는 유효가능한 지질이 고체가 되

록 하는 융점을 갖는 모든 지질 또는 지질-유래 물질일 수 있다.

- [0085] 본원에 사용된 바와 같은 "유화가능한 지질"은 하나 이상의 친수성 기와 하나 이상의 소수성 기를 함유하고, 친수성 및 소수성 계면을 형성할 수 있는 구조를 갖는 지질을 의미한다. 상기 언급된, 유화가능한 지질의 화학적 및/또는 물리적 특성은 유화를 허용해준다. 계면의 예에는, 예를 들어 미셀 (micelle) 및 이중층이 포함된다. 친수성 기는 극성 기일 수 있고, 전하를 띠거나 전하를 띠지 않을 수 있다.
- [0086] 유화가능한 지질은 동물 또는 식물성 기원, 예를 들어 팜핵유, 대두유, 면실유, 카놀라 오일, 및 가금류 지방 (수소화 유형 I 식물성 오일 포함)으로부터 유래될 수 있다. 일부 실시양태에서, 지질은 수소화된다. 지질은 또한, 포화되거나 부분적으로 포화될 수 있다. 유화가능한 지질의 예에는 모노글리세리드, 디글리세리드, 지방산, 지방산의 에스테르, 인지질, 그의 염, 및 그의 조합물이 포함되지만, 이에 제한되지 않는다.
- [0087] 유화가능한 지질은 바람직하게, 식품 등급의 유화가능한 지질이다. 식품 등급의 유화가능한 지질의 일부 예에는 소르비탄 모노스테아레이트, 소르비탄 트리스테아레이트, 칼슘 스테아로일 락틸레이트, 및 칼슘 스테아로일 락틸레이트가 포함된다. 유화가능한 지질인 식품 등급의 지방산 에스테르의 예에는 모노- 및 디글리세리드의 아세트산 에스테르, 모노- 및 디글리세리드의 시트르산 에스테르, 모노- 및 디글리세리드의 락트산 에스테르, 지방산의 폴리글리세롤 에스테르, 지방산의 프로필렌 글리콜 에스테르, 및 모노- 및 디글리세리드의 디아세틸 타르타르산 에스테르가 포함된다. 지질에는, 예를 들어 수소화 대두유가 포함될 수 있다.
- [0088] 어떠한 유화가능한 지질도 본 발명의 방법 및 생성물에 사용할 수 있다. 특정 실시양태에서, 사용된 유화가능한 지질은 비-응집성의 비-에어로졸화 효소 제제 입자를 생성시킬 것이다.
- [0089] 다른 실시양태에서, 당해 방법은 a) 유화가능한 지질을 하나 이상의 첨가제와 블렌딩하여 블렌드를 획득하는 단계; 및 b) 스크리닝된 소화 효소를 상기 블렌드로 코팅하여, 소화 효소를 함유하는 코어 및 유화가능한 지질의 블렌드를 함유하는 코팅을 함유하는 캡슐화 소화 효소를 형성시키는 단계를 포함하는, 자폐증, ADD, ADHD, 파킨슨병, 낭성 섬유증 및 다른 신경계 질환이 있는 개체를 치료하는 데에 유용한 증강된 유동 특성을 지닌, 캡슐화 제어 방출 소화 효소 제제의 제조에 관한 것이다.
- [0090] 도 2에 도시된 바와 같이, 상기 효소를 지질로 코팅시키는 것은 효소가 크기 및 외형 면에서 보다 균일하도록 만들 수 있지만, 미가공 효소와 연관된 뽀족한 모서리를 감소시키고, 투여와 제작을 용이하게 해주는데, 이는 커버를 씌운 효소와 연관된 유동 특성이, 제조용 기구가 사체/파우치를 상기 효소로 용이하게 충전시킬 수 있게 해주고 사체의 과도 충전 또는 저 충전을 저하시킬 것이기 때문이다. 단위 용량 패키징은 어린이가 다중 용량 캔/박스/또는 다른 용기를 개봉할 수 있는 능력을 저하시킨다. 삼층 호일 파우치 또한 사체는 어린이가 해당 사체/파우치를 개봉할 수 있는 능력과, 효소를 과도하게 활용할 수 있는 능력을 추가로 저하시킨다.
- [0091] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 소화 효소를 코팅시키기 위해 지질 블렌드를 사용함으로써 캡슐화 제제로부터의 소화 효소의 방출 속도를 제어하는 방법에 관한 것이다. 이러한 방법은 유화가능한 지질을 하나 이상의 첨가제와 블렌딩하여 블렌드를 획득하는 단계; 및 소화 효소를 상기 블렌드로 코팅하여, 소화 효소를 함유하는 코어 및 유화가능한 지질의 블렌드를 함유하는 코팅을 함유하는 캡슐화 소화 효소를 형성시키는 단계를 포함한다. 용매에 대한 노출시 캡슐화 제제로부터의 효소의 방출 속도는 첨가제의 양이 증가함에 따라 감소된다. 대체 방안에서는, 용매에 대한 노출시 캡슐화 복합물로부터의 효소의 방출 속도는 첨가제의 양이 감소함에 따라 증가된다. 따라서, 코팅의 성질은 캡슐화물로부터의 효소의 제어 방출을 고려한다.
- [0092] 비-유화가능한 지질은 상기 언급된 바와 같은 유화와 관계된 화학적 및/또는 물리적 특성을 보유하고 있지 않고, 이에 모든 지질, 지질 유래된 물질, 왁스, 유기 에스테르, 또는 그의 조합물이 포함된다. 비-유화가능한 지질은 일반적으로, 스스로는 유화되지 않는다. 비-유화가능한 지질은 첨가제로서 사용할 수 있는데, 단 코팅, 및 구성분 지질의 특성이 유화를 허용해야 한다. 비-유화가능한 지질, 예를 들어 트리글리세리드를 본 발명의 유화가능한 지질과 블렌딩할 수 있다. 비-유화가능한 지질은 동물, 식물, 광물, 또는 합성 기원으로부터 유래될 수 있다. 비-유화가능한 지질은 바람직하게, 수소화되고, 포화 또는 부분적으로 포화될 수 있으며, 이 예에는 트리글리세리드가 포함되지만, 그에 제한되지 않는다. 바람직한 실시양태에서, 상기 코팅은 체장/소화 효소에 적용된 모노글리세리드와 트리글리세리드의 블렌드를 함유한다.
- [0093] 하나 이상의 첨가제에 본 발명의 유화가능한 지질을 봉입시키는 것을 이용하여 코팅의 유화 및 효소의 방출을 제어한다. 예를 들어, 첨가제인 트리글리세리드를 모노글리세리드 (예: 유화가능한 지질)와 블렌딩하여 코팅의 유화를 제어할 수 있고, 이로써 복합물로부터의 효소의 방출 속도를 제어 (예를 들어, 감소)할 수 있다. 추가 예로서, 하나 이상의 첨가제, 예컨대 디글리세리드 및 트리글리세리드를 유화가능한 지질과 블렌딩하여 효소의

방출 속도를 제어할 수 있다. 수소화 식물성 오일은 대두 레시틴 또는 다른 성분과 같은 유화제를 함유할 수 있다.

- [0094] 소화 효소에 대한 적합한 지질 코팅을 선택하는 경우에는 기계적 강도, 용점 및 소수성을 포함한 특성이 고려될 수 있다. 보다 낮은 용점을 갖거나 보다 극성의 친수성 특성을 지닌 지질은 일반적으로 캡슐화에 덜 적합한데, 이는 이러한 지질로 인해서는 가속화 저장 안정성 조건 하에 고형화될 수도 있는 생성물이 생성되기 때문이다. 예를 들어, 수소화 대두유, 수소화 피마자 왁스 및 카르나우바 왁스를 이용하여 만든 효소 제제는 모두 우수한 주입 특성과 고형화되지 않는 특성을 나타내었다.
- [0095] 왁스는 파라핀 왁스; 석유 왁스; 광물 왁스, 예컨대 지랍 (ozokerite), 세레신 (ceresin), 또는 몬탄 (montan) 왁스; 식물성 왁스, 예를 들어 카르누바 왁스, 월계수 열매 (bayberry) 왁스 또는 아마 왁스; 동물 왁스, 예를 들어 경랍 (spermaceti); 또는 곤충 왁스, 예컨대 밀랍일 수 있다.
- [0096] 부가적으로, 왁스 물질은 12 내지 31개 탄소 원자를 갖는 지방산 및 12 내지 31개의 탄소 원자를 갖는 지방 알코올의 에스테르, 24 내지 62개의 탄소 원자 함량을 지닌 에스테르, 또는 그의 혼합물일 수 있다. 그의 예에는 미리실 팔미테이트, 세틸 팔미테이트, 미리실 세로테이트, 세틸 미리스테이트, 세틸 팔미테이트, 세틸 세르테이트, 미리실 펠리세이트, 스테아릴 팔미테이트, 스테아릴 미리스테이트, 및 라우릴 라우레이트가 포함된다.
- [0097] 추가 실시양태에서, 본 발명은 용매에 대한 노출시 캡슐화 복합물로부터의 체장/소화 효소의 방출 속도를 제어하는 방법을 제공한다. 이 방법은 효소를 일정량의 유화가능한 지질로 코팅시켜 캡슐화 체장 효소 물질 복합물을 형성하는 단계 (여기서, 캡슐화 복합물로부터의 효소의 방출 속도는 이러한 캡슐화 복합물의 총 중량을 기준으로 하여 유화가능한 지질의 양이 증가함에 따라 감소된다)를 포함한다. 대체 방안에서, 캡슐화 복합물로부터의 체장 효소의 방출 속도는 이러한 캡슐화 복합물의 총 중량을 기준으로 하여 유화가능한 지질의 양이 감소함에 따라 증가된다. 이러한 실시양태에 유용한 유화가능한 지질은 본질적으로 하나 이상의 모노글리세리드로 이루어질 수 있다.
- [0098] 지질이 유화되는 용매는 수성 용매일 수 있다. 수성 용매는 유화가능한 지질에 존재하는 친수성기와 상호작용하고, 코팅의 연속성을 붕괴시켜, 코팅 내의 지질과 수성 용매 간의 예멸선을 생성시키므로, 복합물로부터 생물활성 물질을 방출시킨다.
- [0099] 신경계 질환 또는 장애를 치료하기 위하여 체장 또는 소화 효소 코어를 캡슐화하기 위해 사용된 본원의 방법은 기존에 보고되지 않았다. 시간-방출된 약물의 특징을 지니고 있고 안정성을 위해 지질 캡슐화를 활용하고 있는, 인간에게 사용하기 위한 약물의 지질 캡슐화 방법은 기존에 보고되지 않았다. 본원에 기재된 실험 이전에는, 자폐증, ADD, ADHD, 파킨슨병, 및 소화 효소를 이용한 치료에 대해 감수성인 다른 신경계 또는 행동 질환을 치료하기 위하여 GI 관을 따라 시간-특이적 및/또는 부위-특이적 표적화 방출에 적합한 소화 효소 및 유화가능한 지질의 코팅을 포함하는 캡슐화 효소 제제의 제조를 허용하는 프로토콜은 공개되지 않았다.
- [0100] 본 개시내용의 측면 및 실시양태는 유화가능한 지질의 코팅 및 소화 효소를 포함하는 특정 제약 투여 제제가 GI 관의 각종 부분을 따라 예상치 못한 바람직한 방출 및 용해 프로파일과 흡수 역학 파라미터, 및 신규한 상승 활성을 지닐 수 있다는 놀랍고도 예상치 못한 발견으로부터 비롯된다. 이들 특징은 자폐증, ADD, ADHD, 파킨슨병 및 다른 신경계 질환을 치료하기 위하여 GI 관을 따라 부위-특이적 표적화 방출을 위한 특이적 생물활성 효소를 제제화하는 데에 유용하다.
- [0101] 대상체가 유효량의 소화 효소를 이용한 치료를 필요로 하는지를 결정하는 것은 이러한 대상체에게 효소 결핍증이 있는지를 결정하는 것에 기초할 수 있다.
- [0102] 본 발명의 한 측면에서, 상기 방법은 효소 결핍증을 갖기도 하는, 자폐증, ADD, ADHD, 파킨슨병 및 다른 신경계 질환 또는 질환이 있는 어린이 및 다른 개체를 치료하기 위하여 본 발명의 효소 제제를 사용하는 단계를 포함한다. 효소 결핍증은 효소 결핍증을 결정하거나 진단하는 데에 사용된 모든 방법에 의해 결정할 수 있었다. 한 측면에서, 이러한 결정 또는 진단은 식습관, 자율식이 규제, 섭식 장애의 증상 및/또는 위장 장애의 증상을 포함한 증상을 평가함으로써 이루어질 수 있다. 다른 측면에서, 상기 결정은, 예를 들어 GI 관에 분비, 배출 또는 존재하는 효소의 활성 또는 수준을 탐지하기 위한 생화학적 시험을 기준으로 하고/하거나 하나 이상의 소화 효소를 암호화하는 유전자의 이상한 발현 또는 유전자 내의 돌연변이의 존재를 결정함으로써 이루어질 수 있다. 효소 결핍증은 또한, 예를 들어 하나 이상의 소화 효소의 발현 또는 활성을 조절하거나 이에 영향을 미치는 생성물을 암호화하는 유전자의 이상한 발현 또는 돌연변이를 탐지함으로써 결정할 수 있다.
- [0103] 일부 측면에서, 치료하고자 하는 개체를 대상으로 하여, 소화 효소의 활성 또는 발현에 영향을 미치지 않는 동

반이환 (co-morbidity)의 존재에 관하여 시험할 수도 있다. 특정 측면에서, 임상 증상을 기초로 해서 자폐증이 있는 것으로 결정되었지만, 유전적 동반이환과 같은 동반이환을 기초로 해서 그렇치 않은 개체를 본원에 기재된 효소 전달 시스템으로 치료하였다. 그러나, 임상 증상 및 동반이환에 기초해서 자폐증이 있는 것으로 결정되었지만, 그럼에도 불구하고 FCT 수준에 대해 비정상적으로 낮은 것으로 시험되거나 GI 병원체의 또 다른 지표를 이용하여 양성인 것으로 시험되고/되거나 낮은 소화 효소 활성 또는 발현으로 시험된 개체를 또한, 본 발명의 효소 전달 시스템으로 치료할 수 있다.

[0104] 다음 동반이환이 예시적 동반이환으로서 제시된다:

[0105] 취약 X

[0106] 할러만-스트라이프 (Hallermann-Streiff) 증후군

[0107] 21번 삼염색체증

[0108] 9번 상의 전위

[0109] 베크워드-위드만 (Beckwith-Wiedemann) 증후군

[0110] 21번 삼염색체증

[0111] 18번 삼염색체증

[0112] 루벤슈타인-타비 (Rubenstein-Tabi) 증후군

[0113] 취약 X

[0114] 프라더-윌리 (Prader-Willi) 증후군

[0115] 21번 삼염색체증

[0116] 레트 증후군

[0117] 클리펠-파일 (Klippel-Feil) 증후군

[0118] 레트 증후군

[0119] 뒤시엔느 (Duchenne) 근이영양증

[0120] 투렛 (Tourette) 증후군

[0121] 자궁내 발작

[0122] 21번 삼염색체증

[0123] 취약 X

[0124] 유년성 RA

[0125] 자궁내 발작

[0126] 6번 삼염색체증

[0127] 뒤시엔느 근이영양증

[0128] 유년성 당뇨병

[0129] 유형 I 당뇨병

[0130] 부신백색질형성장애증 (Adrenoleukodystrophy)

[0131] 윌슨병 (Wilson's disease)

[0132] 자궁내 발작

[0133] 유형 I 당뇨병

[0134] 프라더-윌리 증후군

- [0135] 22q13
- [0136] 투렛 증후군
- [0137] 뇌회결손 (Lissencephaly)
- [0138] 호중구 면역결핍 증후군
- [0139] 유형 I 당뇨병
- [0140] 투렛 증후군
- [0141] 18p 사염색체증
- [0142] 고 IgE 증후군
- [0143] 안젤만 (Angelman) 증후군
- [0144] 유형 I 당뇨병
- [0145] 레트 증후군
- [0146] 취약 X
- [0147] 마르팡 (Marfan) 증후군
- [0148] 바르텐부르크 (Waardenburg) 증후군
- [0149] 글루타치온 신테타제 결핍증
- [0150] 유형 I 당뇨병
- [0151] 루빈슈타인-타이비 (Rubinstein-Taybi)
- [0152] 안젤만 증후군
- [0153] 클린펠터 (Klinefelter) 증후군
- [0154] 출생시 뇌 출혈
- [0155] 터너 (Turner) 증후군
- [0156] 갑상선 기능저하증
- [0157] 유형 I 당뇨병
- [0158] 미숙아 뇌 손상.
- [0159] 한 측면에서, 효소 결핍증의 결정은 분변 키모트립신 수준에 관한 시험을 이용하여 이루어질 수 있다. PCR 또는 다른 증폭, SNP 탐지, 서열 분석 및/또는 DNA 콤파잉과 같은 방법을 사용하여, 소화 효소를 암호화하는 하나 이상의 유전자의 발현을 방해하는 저분자 RNA 서열의 존재 또는 돌연변이의 존재를 탐지할 수 있다. 예를 들어, 돌연변이는 상기 효소의 활성을 저하시키거나 없애는 소화 효소를 암호화하는 유전자 내에서 일어날 수 있다. 또 다른 예로서, 돌연변이는 다형질성 MET 수용체 티로신 키나제를 암호화하는 유전자인 MET 유전자 내에서의 돌연변이일 수 있다 (문헌 [Campbell et al., PNAS 103(46), 16834-39 (2006)] 참조). 이들 돌연변이에는, 예를 들어 MET 프로모터 변이체 rs1858830 C 대립유전자 및/또는 MET 신호전달 경로에서의 돌연변이, 예컨대 SERPINE1 유전자의 일배체형 또는 rs 344781 PLAU 프로모터 변이체 T 대립유전자가 포함될 수 있다.
- [0160] 본 발명의 효소 제제는 자폐증, ADD, ADHD, 파킨슨병, 및 효소 치료를 필요로 하는 다른 신경계 질병 또는 질환이 있는 개체에게 소화 효소를 전달하는 데에 사용하기 적합하다. 팔론 (Fallon)은 자폐증, ADD, ADHD, 파킨슨병, 및 다른 신경계 질병 또는 질환이 있는 어린이 및 다른 개체를 치료하는 데 사용하기 위한 특정 방법 및 효소 조성물을, 예를 들어 미국 특허 제7,138,123호, 제6,660,831호, 제6,632,429호, 제6,534,063호 (본원에 상세히 제시된 것처럼 본원에 참고로 포함된다)에 기재하였다.
- [0161] 본 발명은 상기 개요, 상세한 설명, 및 구체적으로 논의되거나 달리 기술된 모든 바람직한 및/또는 특별한 실시양태와 연계해서 관독되어야 하는, 첨부되는 도면 및 실시예를 참조로 하여 다음에 보다 상세히 기재될 것이다. 그러나, 본 발명은 많은 상이한 형태로 구체화될 수 있고, 본원에 제시된 실시양태들로 제한되지 않아야 하며;

오히려, 이들 실시양태는 단지 예시로서 제공되므로, 본 개시내용은 당업자에게 본 발명의 완전한 범위를 철저히, 완전히 그리고 전부 전달할 것이다.

[0162] 본원에 기재된 실험에서는, 예상치 못한 증강/상승된 효능 및 특성을 감안한 몇 가지 요인들이 발견되었다. 예를 들어, 대두유를 포함하는 특정 캡슐화 효소 제제가 부위-특이적 활성, 방출/용해 프로파일, 및 제작, 패키징 및 저장의 용이성 면에서 개선을 가져다 준 특성의 놀라운 특징을 나타냈다는 사실을 발견하였다. 특별한 작동 이론에 얽매이는 것은 아니지만, 당업자는 이들 유리한 파라미터를 산출할 수도 있는 샘플 제제 및/또는 제제의 다른 방법이 또한 본원에 고려된다는 것을 인지할 것이다.

[0163] 다음 실험은 본 발명에 따르는 예시적 과정을 기재한다. 이들 실험 및 상응하는 결과는 단지 예시로서 제시되고, 이로써 본 발명의 전반적인 범위가 제한되지 않아야 한다는 것을 인지해야 한다. 예를 들어, 이들 연구는 본 개시내용의 예시적 캡슐화 효소 제제에 의해 실현된 예상치 못한 개선 일부를 입증해준다.

[0164] <실시에>

[0165] **실시예 1: 예시적 캡슐화 소화 효소 제제의 증가된 유동 특성 및 주입 능력**

[0166] 본 개시내용의 예시적 방법 및 제제를 적용하기 전에, 처리시키지 않은 미가공 효소 제제 (공급처: Scientific Protein Laboratories (SPL) of Wanakee, WI)를 조사한 결과, 이것이 도 1에 도시된 바와 같은 입자의 전자 현미경 사진에 제시된 바와 같이, 입자 크기 면에서 상당히 가변적이고 불규칙한 형태를 지니고 있다는 사실이 밝혀졌다. 일부 결정성 염 입자가 또한 가시적이다. 미가공 효소는 주입하지 못하는데, 이는 이것이 덩어리를 형성하고, 불균일한 표면과 뾰족한 모서리로 인해 측정하기가 곤란하기 때문이다. 미가공 제제는 또한, 추가의 처리없이 지질 캡슐화에 적합하지 않는데, 이는 미가공 생성물이 적당히 캡슐화하기에 너무 큰 입자와 너무 작은 입자 둘 다를 함유하기 때문이다. 체질된 효소는 크기 면에서 보다 균일하긴 하지만, 지속적으로 불균일한 표면을 나타내고 주입 동안 덩어리를 형성한다.

[0167] 도 2는 미가공 물질을 체질하고 지질 코팅시킨 후 생성된 코팅된 효소 제제를 도시한 것이다. 이러한 예에서, 입자의 형태는 상당히 개선되었는데, 보다 둥근 표면을 지녔다. 이로써, 유동 특성과 관능 특성이 우수한 비-분진성 생성물이 생성된다.

[0168] 효소의 형태는 덜 분진성이고, 에어로졸화되지 않으며 우수한 유동 특성과 개선된 관능 특성을 지닌 생성물을 유발시키는, 표면의 원형으로 인해 현재 상당히 개선된다.

[0169] 미가공 효소 제제 중에서의 입자의 크기 분포도가 도 3의 그래프에 도시되어 있다. 일반적으로, 큰 입자 (>40 메쉬) 및 극히 작은 입자 (<140 메쉬)는 적당한 캡슐화에 적합하지 않다. 캡슐화 칩장 효소 제제의 유동 특성을 증가시키기 위해, 미가공 효소 입자를 체질하여 크기 40 내지 140 메쉬, 또는 약 106 내지 425 마이크론의 입자 만을 포함시켰다.

[0170] **실시예 2: 예시적 캡슐화 소화 효소 제제의 안정성: 온도 저장**

[0171] 추가 예시적 실시양태에서, 지질의 다중 유형 및 중량 %를 이용하여, 체질된 효소 코어를 코팅하였다. 기계적 강도, 융점 및 소수성을 포함한 특성이 칩장 효소에 대한 적합한 지질 코팅을 선택하는 데에 고려되었다. 지질 코팅의 다중 예를 다음에 조사하였고, 25℃ 및 40℃ 하에서 그들의 물리적 외관을 조사하였다. 따라서, 기계적 강도, 융점 및 소수성과 같은 특정 범위의 물리적 특성을 지닌 지질을 대상으로 하여, 칩장 효소의 코팅에 관하여 평가하였다. 본 실시예에서는, 코팅의 융점을 감소시키거나 소수성을 증가시키는 것이 캡슐화에 적합하지 않았는데, 이는 이로 인해 가속된 저장 안정성 조건 하에 고형화될 수 있는 생성물이 생성되었기 때문인 것으로 밝혀졌다. 수소화 대두유, 수소화 피마자 왁스 및 카르나우바 왁스를 이용하여 만든, 체질되고 캡슐화된 효소 제제는 모두 우수한 주입성을 나타내었고, 전혀 고형화되지 않았다.

[0172] 표 1은 25℃ 및 40℃에서 발생한 가시적 물리적 변화 결과를 제공한다:

표 1

코팅 시스템	25℃ 저장에서의 물리적 외관	40℃ 저장에서의 물리적 외관
수소화 대두유 발켄(Balchem)/알리벡(Alibec)	OK	OK
수소화 피마자 왁스	OK	OK
카르나우바 왁스	OK	OK
수소화 모노글리세리드	OK	강력한 고형화
대두/모노글리세리드 블렌드	OK	일부 고형화

[0173]

[0174]

[0175]

[0176]

[0177]

수소화 모노글리세리드와 대두유/모노글리세리드 블렌드 둘 다는 보다 고온에서 고형화되는 것으로 입증되었다. 따라서, 보다 낮은 용점 또는 보다 많은 친수성 코팅은 캡슐화에 적합하지 않았는데, 이는 이로 인해, 40℃ 하에서의 본 발명자들의 가속된 저장 조건 시험에 의해 입증된 바와 같이 연장된 저장 조건 하에서 고형화될 수도 있는 생성물이 생성되었기 때문인 것이 명백하다.

수소화 모노글리세리드와 대두유/모노글리세리드 블렌드 둘 다는 보다 고온에서 고형화되는 것으로 입증되었다. 따라서, 코팅의 용점을 감소시키거나 친수성을 증가시키는 것이 캡슐화에 적합하지 않았는데, 이는 이로 인해, 40℃ 하에서의 본 발명자들의 가속된 저장 조건 시험에 의해 입증된 바와 같이 연장된 저장 조건 하에서 고형화될 수도 있는 생성물이 생성되었기 때문인 것이 명백하다.

실시예 3: 취약 효소에 적합한 예시적 캡슐화 소화 효소 제제: 안정성의 함수로서 측정된 효소 활성

추가 실시양태에서, 다음 방법에 따라서 효소 안정성을 결정하였다: 가속 시험을 위해, 표준 ICH 지침을 사용하였다: 코팅된 제제를 플라스틱 용기 내에 놓아두고, 40℃ 및 75% 상대 습도 하의 제어 습도 캐비닛에 저장하였다. 상기 코팅된 효소 제제를 분쇄하고, 적당한 완충제에 분산시킨 다음, 리파제 활성에 관하여 시험함으로써 효소 활성을 측정하였다.

표 2

밀폐된 용기 내에서, 40℃/75% RH 하에 저장한 경우 캡슐화 효소의 % 안정성

샘플	로트# 또는 코트	활성 RT	1주 캡핑된 경우의 활성	2주 캡핑된 경우의 활성	1개월 캡핑된 경우의 활성
PEC 미가공 Nov '06	1206-1369A	116%	126%		75%
EC 캡슐화 70%, 모노글리세리드	R1C-0890	118%	112%		
PEC 캡슐화 50% 대두/모노	R1C-0891	116%	110%		88%
PEC 미가공 Jan '07	1206-1382B	113%			61%
PEC 캡슐화 70% 카르누바	R1C-0898				
PEC 캡슐화 50% 카르누바	R1C-0898				68%
PEC 캡슐화 70%, 피마자 왁스	피마자 왁스	108%		78%	87%
PEC 캡슐화 80%, 대두	대두	99%		89%	87%

[0178]

[0179]

[0180]

[0181]

상기 표 2에 요약된 데이터에 예시된 바와 같이, 대두유 80%는 지질 모두에게 가장 큰 양의 안정성을 부여하는 것으로 나타났는데, 이러한 효과는 놀랍게도, 캡핑되지 않은 용기에서 보다 캡핑된 용기에 저장된 효소 제제의 경우에 더 컸다. 개방 펜 내에서 40℃ 하에 저장된 75% 상대 습도 효소 제제에 대한 안정성 시험 결과, 코팅된 제제와 코팅되지 않은 제제 간의 안정성 상의 상당한 차이가 나타나지 않았다.

실시예 4: 취약 효소에 적합한 예시적 캡슐화 소화 효소 제제: 다중 대두 캡핑화 취약 효소의 방출 속도 및 효소 활성

추가 실시양태에서, 다음에 기재되는 방법에 따라서 캡슐화물을 제조하였다. 미가공 효소 물질을 체질하여, 40 메쉬 보다는 더 작지만 140 메쉬 보다 더 큰 입자를 수득하고, 미세 물질은 제거하며, 장용 제피에 보다 적합한 보다 균일한 혼합물을 수득하였다.

- [0182] 다음 제제를 만들었다:
- [0183] 표준 안정한 대두 코팅을 수반한, 70 중량% 활성 효소;
- [0184] 표준 안정한 대두 코팅을 수반한, 80 중량% 활성 효소; 및
- [0185] 표준 안정한 대두 코팅을 수반한, 90 중량% 활성 효소.
- [0186] 각 캡슐화 효소 제제의 활성은 이러한 캡슐화물을 분쇄하고, 이와 같이 분쇄된 물질을 적당한 완충제에 분산시킨 다음, 리파제 활성에 관하여 시험함으로써 측정하였다.
- [0187] 도 4에 도시된 바와 같이, 코팅된 제제 내의 효소 활성은 코팅시 활성의 어떠한 상당한 손실도 나타나지 않았다 (미가공 효소 물질의 공인된 효소 활성에 대해 표준화시키면, 활성은 110%에서 100%로 감소하였다).
- [0188] 각 캡슐화물을 pH 6.0 완충제 하의 용해 장치 내에서 30, 60 및 90분 동안 현탁시킴으로써 (USP 지침에 따라서 100 rpm) 효소 방출을 측정하였다. 도 5에 도시된 바와 같이, 모든 캡슐화물은 30 및 60분에서 80 내지 90% 방출을 나타내었다. 90분에는, 이들 제제를 이용하여 수득된 효소 활성 측정치가 감소하였다.
- [0189] **실시예 5: 웨장 효소에 적합한 예시적 캡슐화 소화 효소 제제: 다중 대두유 캡핑화 웨장 효소의 입자 크기**
- [0190] 추가 실시양태에서는, 대두유로 캡슐화된, 70 또는 80 중량%의 활성 웨장 효소를 함유하는 제제를 도 6에 도시된 바와 같이, 입자 크기에 관하여 미가공 웨장 효소 물질과 비교하였다.
- [0191] 모든 수준의 지질은 입자 크기의 강력한 영향력을 입증하였다. 80% PEC는 가장 균일한 것으로 입증되었는데, 이는 200 메쉬 수준에서는 어느 것도 나타나지 않았기 때문이다.
- [0192] **실시예 6: 웨장 효소에 적합한 예시적 캡슐화 소화 효소 제제: 냄새 및 맛**
- [0193] 70, 80 및 90 중량% 효소를 함유하는 예시적 캡슐화 효소 제제의 조사를 수행하여, 수카나트™ (Sucanat™) 및 갈색 당과 비교한 경우 뿐만 아니라 미가공 효소와 비교한 경우에 그들의 맛과 냄새를 결정하였다. 그 결과가 다음 표 4에 제시되어 있다. 수카나트™는 유기 완전 식품 감미제이다.

표 4

물질	향	맛
갈색 당	있음	달다
수카나트™	없음	달다
미가공 효소	고기 냄새/훈제 냄새	N/A
70%	없음	없음
80%	없음	없음
90%	약간	짠맛

- [0194]
- [0195] **실시예 7: 웨장 효소에 적합한 예시적 캡슐화 소화 효소 제제: 제작**
- [0196] 본 발명의 효소 제제를 만드는 데에 유용한 제작 공정을 요약한 플로우 차트가 도 7에 도시되어 있다.
- [0197] 예시적 캡슐화 웨장 효소 제제의 배치를 만드는 데에 사용된 성분은 20.0 lb의 체질된 웨장 효소, 및 5.0 lb의 수소화 식물성 오일, 예를 들어 대두유를 포함하였다.
- [0198] 웨장 효소 농축물을 먼저, 40 USSS 메쉬 스크린을 통하여 체질하고, 이러한 메쉬를 통과한 물질을 유지시켰다. 이어서, 이와 같이 유지된 물질을 140 USSS 메쉬 스크린 (또는 등가물)을 통하여 스크리닝하고, 이러한 메쉬를 통과하지 않은 물질이, 체질된 웨장 효소 물질 또는 입자로서 유지되었다.
- [0199] 캡슐화 공정에서는, 적당한 코팅 물질을 용융 포트에 충전시키고, 분무 공정 동안 110°F가 되도록 하고 유지시켰다. 분무 공정 동안 적당한 조도를 제공할 어떠한 온도도 사용할 수 있다. 일부 실시양태에서는, 코팅에 사용된 지질의 융점을 기준으로 하고/하거나 상기 체질된 웨장 효소 물질 또는 입자를 코팅과 접촉시킨 후, 효소 제제의 활성이 거의 같게 유지되도록 온도를 추가로 선택한다.
- [0200] 액화된 코팅 물질을 칭량하고, 이를 분무 포트에 옮겼다. 체질된 웨장 효소를 캡슐화 제조 용기에 가하였다. 웨장 효소 입자를 코팅 물질로 캡슐화하여 선택된 코팅 수준이 되도록 하였다.

- [0201] 캡슐화된 물질을 14 USSS 메쉬 스크린 (또는 등가물)으로 스크리닝하고, 이러한 스크린을 통과한 물질이 유지되었다. 체질한 후, 상기 물질을 수집하고, QC를 위해 샘플을 제거하였다.
- [0202] 2개의 서브-배치를 블렌딩해야 하는 경우, 부하된 스크리닝된 물질을 적합한 블렌더에 가하고 7 내지 10분 동안 블렌딩하였다. 최종 처리된 생성물을 시험하기 위한 샘플을 수득하였다. 캡슐화 물질을 벌크 패키징하고, 검역소에 계류중인 시험 결과를 평가하였다. 허용 기준을 달성하면, 최종 처리된 생성물이 양질 군에 의해 방출되었다. 그 후, 생성물을 지시받은 대로 출하할 수 있다.
- [0203] 분석 시험 및 미생물 검정 (이는 시간이 경과함에 따라 시험할 수 있다)을 포함한, 최종 처리된 생성물 시험을 위해 샘플을 수집하였다.
- [0204] **실시예 8: 웨장 효소에 적합한 예시적 캡슐화 소화 효소 제제: 패키징**
- [0205] 또 다른 추가 실시양태에서, 효소의 안정성은 부분적으로 캡슐화에 기인하고, 부분적으로는 삼층 호일 패키징에 기인한다. 다음은 단일 용량 사체/파우치에 대한 패키징 공정을 나타낸다.
- [0206] 첫째, 제작 후, 생성물을 식품 등급의 폴리에틸렌 봉지로 이중 선을 낸 청정한 드럼 내로 분산시키고, 이 드럼을 밀봉시킨다. 사양 기준을 충족시킨 경우, 로트를 검역소로부터 풀어준 다음, 해당 물질을 환자에게 개별적으로 투여하기 위한 사체에 배포하기에 적합한 패키지에게 출하한다.
- [0207] 예를 들어, 설린 라이너 (Surlyn liner)를 수반한 26# C1S 페이퍼/7.5# LDPE/.0007" 알루미늄 호일/15#로 이루어진, 어린이에게 안전하다고 (CR) 인쇄된 PD-73272 파우치를 패키징에 활용하였다. 바람직하게는, 예비-인쇄된 필름/호일, 외부 인쇄물은 백색 배경에 한 가지 색상 아이-마크 (eye-mark)를 갖는 반면, 로트 번호의 인라인 인쇄물에서는, 유통 기한 및 제품 코드가 또한, 한 가지 색상인 검정색일 것이다. 전반적인 사체 치수는 W 2.50" x H 3.50"이다. 이러한 사체는 단위 용량 파우치/사체 내로 ±10%의 내성을 지닌 900 mg의 판크레리파제 (Pancrelipase) 지질-캡슐화 의약품의 파립을 유지하도록 크기 조절하였다. 최종 생성물은 156 이상 USP 단위 /mg의 프로테아제 활성을 지닐 것이다.
- [0208] **실시예 9: 웨장 효소에 적합한 예시적 캡슐화 소화 효소 제제: 용해**
- [0209] 대두유를 수반한 지질 캡슐화 입자로부터의 판크레아타제의 방출 효과는 지질 코팅 수준 (총 입자 중량당 % 지질 코팅으로서 표현됨)을 다양하게 한 입자를 이용하여 연구하였다. 코팅 수준은 10%에서 30%로 다양하였다. 60분 기간에 걸친 상기 입자로부터의 수성 환경 하에서의 판크레아타제의 방출에 대한, 상기 범위의 지질 코팅의 상당한 효과는 없었다. 모든 제제는 용해 개시 이후 처음 30분 이내에 효소의 80% 이상을 방출한다. 90%, 80% 및 70%에 대한 최대 방출은 60분까지 각각 85%, 88% 및 83%였다.
- [0210] **실시예 10: 자폐증을 치료하기 위한 예시적 효소 전달 시스템**
- [0211] 70% 내지 90% 캡슐화 웨장 효소 제제 (활성 효소 중량을 기준으로 함)의 선택은, 프로테아제 성분에 의한 단백질 소화가 일어나게 될 근위 소장에서의 효소의 방출에 적합한 것으로서 그의 방출 프로파일을 기준으로 하여 선별하였다.
- [0212] 단백질 성분의 결여, 및 그에 따른 항원성 특성의 결여를 알아보기 위하여, 대두유를 지질 코팅으로서 선택하여, 치료받고 있는 자폐증 환자 및 어린이에게서 지질 코팅에 대한 알레르기 반응가능성을 최소화하거나 없앴다.
- [0213] 70 내지 90% 제제를 사용하면, 에어로졸화는 감소시키면서 주입 능력과 유동 특성이 증가되는데, 이는 사체 또는 파우치 전달 시스템의 사용을 가능하게 해준다.
- [0214] 삼층 호일 하우징을 부가하면, 스프링클 제제가 안정적이고, 수송가능하며, 단일 단위 용량 기전에 의해 전달되는 것으로 보장된다.
- [0215] 저 리파제 제제는 또한, 결장 협착증 발생가능성을 저하시킴으로써 안전성을 감안한 것이고, 효소의 프로테아제 부분의 활용을 증강시킨다.

표 5

LUMINENZ-AT 캡슐화 소화 효소 제제, 900 mg 사체의 조성

성분	개론 상태	기능	함량
채장 효소 농축물 (돼지 기원)	USP	활성 성분	NLT 156 USP 단위/mg
수소화 식물성 오일, 유형 I (대두유)	NF	지질 코팅 물질	q.s.

[0216]

[0217]

약품 성분인 채장 효소 농축물 (돼지 기원)은 적당한 공급업체로부터 구입하였다. 본 발명의 생성물에 사용하기 적합한 채장 효소 농축물 (판크레아틴/판크레리파제)의 특성이 다음 표에 기재되어 있다.

표 6

파라미터	USP 사양
프로테아제(USP)	NLT 25 USP 단위/mg
리파제 (USP)	NLT 2 USP 단위/mg
아밀라제 (USP)	NLT 25 USP 단위/mg
지방(USP)	NMT 6.0% *
건조 시의 손실(USP)	NMT 5.0%
에스케리키아 콜라이 (<i>Escherichia coli</i>) (USP)	Neg/10 g
살모넬라 (<i>Salmonella</i>) 종 (USP)	Neg/10 g

* 75 U/mg 프로테아제, 6 U/mg 리파제, 또는 75 U/mg 아밀라제 미만인 경우, 사양은 NMT 3.0%이다.

[0218]

[0219]

수소화 식물성 오일 (대두유)에 대한 사양

[0220]

물리적 외관 및 감각 특징:

[0221]

물질은 플레이크 또는 분말 형태로 제공되고, 외래 물질이 없으며, 불쾌한 냄새가 없다.

표 7

화학적 파라미터	사양	분석 과정
용접 범위	67 내지 69 °C	USP/NF <741> 부류
산가	0.4 최대	USP/NF <401>
요오드 가	5.0 최대	USP/NF <401>방법 II
건조 시의 손실	0.1% 최대	USP/NF <731>
비누화 가	175-200	USP/NF <401>
중금속	0.001% 최대	USP/NF <231>
유기 휘발성 불순물	준수함	USP/NF <467>방법 IV
잔류 용매	준수함	USP/NF <467>
비누화될 수 없는 물질	0.8% 최대	USP/NF <401>
미생물 파라미터		
총 호기성 미생물 계수치	2000 cfu/g 최대	USP/NF <61>
스타필로코쿠스 아우레우스 (<i>Staphylococcus aureus</i>)	10 g 내에 부재	USP/NF <61>
슈도모나스 세루기노사 (<i>Pseudomonas seruginosa</i>)	10 g 내에 부재	USP/NF <61>
살모넬라 종	10 g 내에 부재	USP/NF <61>
에스케리키아 콜라이	10 g 내에 부재	USP/NF <61>
곰팡이 및 효모	200 cfu/g 최대	USP/NF <61>

[0222]

[0223] 작동 표준, 희석제, 이동상 B, 및 플라시보의 크로마토그램은 표준 피크를 전혀 방해하지 않은 것으로 나타났다 (도 9의 크로마토그램 참조). 분석용 플라시보 및 활성 정제 조성이 다음 표 8에 제공된다.

표 8

분석용 플라시보 및 활성 분말의 조성		
제제 성분	분석용 플라시보 mg/사쇄	활성 mg/사쇄
웨이징 요소 농축물	---	720.0
지질 캡슐화물	180.0	180.0
총	180.0	900.0

[0224]

[0225] 표준 농도의 몇 가지 샘플 수준을 플라시보 매트릭스의 존재 하에 분석함으로써 방법 선형성을 평가하였다. 이들 수준은 50%, 70%, 100%, 130%, 및 150%였다. 각 샘플의 3가지 주사제를 사용하여 상기 수준에 대한 평균 반응 (면적/농도)를 계산하였다. 이어서, 이로써 생성된 반응 비에 대한 상대 표준 편차를, 평균 피크 면적 대 농도에 대한 최소 제곱 선형 회귀 통계치와 함께 계산하였다 (표 9 및 10 참조). 선형 회귀 라인을 수반한 평균 피크 면적 대 농도 플롯이 도 10에 제공된다.

표 9

선형성 데이터						
표준		피크 면적 (mAU s)			평균 피크 면적 (mAU s)	평균 반응
mg/mL	%	주사제 1	주사제 2	주사제 3		
0.100	50	709.4	712.9	710.5	710.9	7109.3
0.140	70	1041.2	1040.0	1002.9	1028.0	7343.1
0.200	100	1529.0	1499.0	1523.1	1517.0	7585.2
0.260	130	1969.4	2010.3	1996.2	1992.0	7661.4
0.300	150	2336.2	2322.6	2350.6	2336.5	7788.2

[0226]

표 10

선형성 결과		
파라미터	기준	결과
상관 계수	≥ 0.997	0.999
y 절편	± 2.0%	-112.9
반응 비의 RSD	≤ 2.0%	3.6
가시적	선형	있음
y 절편의 표준 오차	-	18.8
기울기	-	8139.1

[0227]

[0228] 실시예 11: 생화학적 바이오마커, 및 자폐증의 행동 핵심 및 비-핵심 증상

[0229] 자폐증 어린이에게서 소화 효소 결핍증 간의 상관 관계를, 임상 (행동) 증상을 기초로 하여 자폐증으로 진단된 어린이에게서 결정하였다. 이러한 상관 관계는 또한, 자폐증 및 유전적 동반이환이 있는 것으로 진단된 어린이에게서 연구하였다. 자폐증 어린이가 자율적 단백질 식이 규제를 나타내었다는 초기 발견 후, 비정상적으로 낮은 수준의 분변 키모트립신 (FCT)이 자폐증에 대한 바이오마커로서 유용하다는 것을 표시하는 연구를 수행하였다.

[0230] 또한, 바이오마커 측정치 및 임상 증상을 기초로 하여, 채식 효소 대체물에 반응하는 자폐증 환자의 수를 또한 결정하였다. 위장계 상의 변화 뿐만 아니라 자폐증의 핵심 증상의 변화를 조사하였다. 다음 표는 다수의 의사에 의거한 부위에서 수행된 연구의 개요를 제공한다.

표 11

연구 번호	대상체의 총 #	자폐증	비-자폐증
1	9	9	
2	26	26	
3	46	25	21
4	54	54	
5	463	266	197
6	320	64	256
7	33	33	
8	42	25	17
9	68	68	
10	225	225	
11	175	175	

[0231]

[0232] 초기 관찰 내용은 자폐증에 걸린 거의 모든 어린이에 의한 자율적 식이 규제의 관찰 결과에 기초하였다. 이어서, 다수의 연구를 수행하여 단백질을 소화할 수 있는 자폐증 어린이의 능력을 평가하였다. 단백질 소화의 생리학에 관한 연구로 인해, 소화 효소, 특히 단백질 분해에 관여한 소화 효소, 예컨대 키모트립신의 위장계의 케스케이드를 조사하게 되었다. 기능이상의 측정 기준으로서, 자폐증으로 인해 고통받고 있는 어린이에게서의 분변 키모트립신 (FCT) 수준이 비정상적으로 낮은 것으로 결정되었다.

[0233] **연구 1**

[0234] 본 초기 연구는 자폐증에 걸린 어린이의 작은 코호트 (cohort)가 실제로 비정상적으로 낮은 수준 (<9.0)의 분변 키모트립신 (FCT)을 갖고 있는지를 결정하기 위한 탐구적 연구였다. 연구 001의 결과가 도 10에 도시되어 있다.

[0235] 자폐증에 걸린 9명의 어린이 모두가 7 미만 단위/그램의 비정상적으로 낮은 FCT 수준 (정상 ≥ 9.0)인 것으로 입증되었다. 이러한 소집단의 어린이에게서의 관찰 결과로 인해, 지금까지는 밝혀지지 않았던 자폐증과의 생리학적 연계가능성을 추가로 조사하게 되었다.

[0236] **연구 2**

[0237] 연구 2는 자폐증에 걸린 보다 큰 코호트의 어린이 (26명 어린이)가 또한, 비정상적으로 낮은 FCT 수준을 경험하였는지를 결정하기 위해 진행되었다. 채식 부진증에 낮은 양으로 존재하는 또 다른 채식 소화 효소인 분변 엘라스타제-1의 수준을 또한 결정하였다. 다시 언급하면, FCT의 수준은 26명 어린이 중의 25명에게서 비정상적으로 낮았는데, 8 U/g 또는 그 미만이었다. 1명의 어린이는 9 U/g의 FCT 수준을 나타내었다. 한편, 모든 어린이는 정상 수준의 분변 엘라스타제-1을 갖고 있었다.

[0238] **연구 3**

[0239] 연구 3에서는, 2세에서 14세까지의 46명 어린이에게서 FCT 수준을 결정하였는데, 25명은 자폐증에 걸렸고 21명은 자폐증에 걸리지 않았다. 데이터는 자폐증에 걸린 어린이는 비정상적으로 낮은 FCT 수준을 갖고 있었고, 자폐증에 걸리지 않은 어린이는 정상 FCT 수준, 즉 12 U/g 또는 그 초과 FCT 수준을 갖고 있었다는 것을 입증하였다. 그 결과가 도 12에 요약되어 있다. 도 12의 상부 라인은 자폐증에 걸리지 않은 대상체에게서의 FCT 수준을 나타낸 반면, 바닥 라인은 자폐증에 걸린 대상체에게서의 FCT 수준을 나타낸다.

[0240] **연구 4**

- [0241] 연구 4에서는, 자폐증에 걸리고 유전적 동반이환이 있는 것으로 진단된 54명의 어린이를 대상으로 하여 FCT 수준에 관하여 조사하였다. 데이터는 자폐증과 유전적 동반이환이 있는 어린이는 FCT 수준에 대해 정상인 것으로 시험되었다는 것을 보여주었다.
- [0242] 자폐증을 행동 평가에 의해 결정함에 따라, 공지된 유전적 장애에 기인하거나 또는 이러한 유전적 장애와 함께 존재하는 자폐증 환자는 자폐증 만을 갖고 있거나 공지된 유전적 장애에 기인하지 않은 다른 환자들과 상이한 생리상태를 나타낼 수 있는 것으로 가정되었다. 일부 유전적 장애는 특유의 증상을 나타내는 반면, 다른 장애는 보다 가변적일 수 있고 자폐증의 종합적 증상과 중복될 수 있다. 본 연구는 또 다른 공지된 질환이 있는 것으로 진단되기도 한 자폐증 어린이를 조사하여, FCT 수준이 이들 어린이에게서 비정상적으로 낮은 지를 결정하였다.
- [0243] 다음 표 12는 자폐증이 있고 또한 유전적 동반이환이 있는 것으로 진단된 54명의 어린이를 나타낸다.

표 12

자폐증이 있고 또한 유전적 동반이환이 있는 것으로 진단된 어린이

FCT 수준 U/g	동반이환	
1	12	취약 X
2	22	할리만-스트라이프 증후군
3	25.2	21번 삼염색체증
4	15.8	9번 상의 전위
5	18	베크워드-워드만 증후군
6	26.6	21번 삼염색체증
7	39.2	18번 삼염색체증
8	16.6	루벤슈타인-타비 증후군
9	25.4	취약 X
10	20.6	프라더-윌리 증후군
11	14.6	21번 삼염색체증
12	25.6	레트 증후군
13	21.4	클리펠-파일 증후군
14	20.6	레트 증후군
15	24.8	뒤시엔느 근이영양증
16	12.2	투렛 증후군
17	14.8	자궁내 발작
18	30	21번 삼염색체증
19	18.8	취약 X
20	17.6	유년성 RA
21	18.8	자궁내 발작
22	34	6번 삼염색체증
23	22.2	뒤시엔느 근이영양증
24	18.8	유년성 당뇨병
25	28.4	유형 I 당뇨병
26	13.8	부신백색질형성장애증
27	44	월슨병
28	19.6	자궁내 발작
29	7.4	유형 I 당뇨병
30	23.4	프라더-윌리 증후군
31	14.4	22q13
32	15.4	투렛 증후군
33	17.6	뇌회결손
34	22.4	호중구 면역결핍 증후군
35	18.4	유형 I 당뇨병
36	32.2	투렛 증후군
37	14.6	18p 삼염색체증
38	31	고 IgE 증후군
39	26.6	안젤만 증후군
40	17.4	유형 I 당뇨병
41	12.6	레트 증후군

[0244]

42	34	취약 X
43	17.4	마르팡 증후군
44	21.2	바르텐부르크 증후군
45	21.8	글루타치온 신데타제 결핍증
46	6.0	유형 I 당뇨병
47	26.6	루빈슈타인-타이비
48	34	안젤만 증후군
49	25.2	클린펠터 증후군
50	21.4	출생시 뇌 출혈
51	16.8	터너 증후군
52	23.4	감상선 기능저하증
53	15.8	유형 I 당뇨병
54	7.8	미숙아 뇌 손상

[0245]

[0246]

자폐증과 유전적 동반이환 둘 다 있는 것으로 진단된 54명 어린이 중의 2명 만이 비정상적으로 낮은 수준의 FCT를 갖고 있었다. 이들 어린이는 유형 I 당뇨병을 갖고 있었다. 54명 어린이 중의 52명은 정상 범위의 FCT 수준으로 등록되었다.

[0247]

이는 낮은 FCT 수준이 또 다른 공지된 유전적 질환의 부재 하에서 자폐증에 걸린 것으로 진단된 어린이에게 존재한다는 사실을 추가로 뒷받침해준다.

[0248]

연구 5

[0249]

연구 5에서는, 다수의 진료소 개업의에 의해 수행된 연구에서 266명은 자폐증에 걸린 것으로 진단되었고 197명은 자폐증에 걸리지 않은 것으로 진단된, 2세에서 8세까지의 463명의 어린이에 대한 FCT 수준을 결정하였다. 데이터는 자폐증에 걸린 어린이는 비정상적으로 낮은 분변 키모트립신 수준을 갖고 있었고, 자폐증에 걸리지 않은 어린이는 정상 수준의 분변 키모트립신을 갖고 있었다는 것을 보여주었다.

[0250]

그 데이터가 다음 표 13에 요약되어 있다.

표 13

자폐증에 걸린 어린이 및 자폐증에 걸리지 않은 어린이에서의 평균 분변 키모트립신 수준

N= 463	자폐증에 걸린 어린이	자폐증에 걸리지 않은 어린이
어린이 총 수	266	197
평균 FCT (U/g)	4.4	23.2
비정상적인 수준의 FCT를 갖는 총 어린이	203	3
% (p<0.001)	76.34%	1.50%
정상 수준의 FCT를 갖는 총 어린이 (p<0.01)	63	194
%	23.68%	98.50%

[0251]

[0252]

이러한 데이터는 자폐증에 걸린 것으로 진단되었지만 공지된 유전적 동반이환이 없는 어린이는 비정상적으로 낮은 수준의 FCT를 갖고 있다는 것을 추가로 확립시켜 주었다. 따라서, FCT 수준은 해당 어린이에게 공지된 유전적 동반이환이 없는 경우에도 (동반이환이 유형 I 당뇨병이 아닌 한은), 자폐증에 걸린 어린이를 진단하는 데에 있어서 유용할 수 있다.

[0253]

키모트립신은 체장 효소이다. 키모트립신은 세린 프로테아제이고, 이것이 소화 과정 동안 필수 아미노산 만을 절단한다는 점에서 독특하다. 구체적으로 언급하면, 키모트립신은 방향족 아미노산의 카복실 측면 상의 펩티드 결합을 절단한다. 비정상적인 FCT 수준으로써 명백해 입증된 바와 같은 단백질 소화 결어로 인해, 해당 어린이에게는 신규 단백질 합성에 이용가능한 아미노산이 부족하게 된다. 충분한 수준의 필수 아미노산을 수반하지 못하면, 각종 신체 기능에 필요한 신규 단백질을 합성할 수가 없다. 예를 들어, 신경학적 프로세스에 관여한 단백질이 부족하거나 결여되면 자폐증 증상이 유발될 수 있다.

[0254]

연구 6

- [0255] 연구 6에서는, 2세에서 18세까지의 320명 어린이를 대상으로 하여 FCT 수준을 결정하였는데, 64명은 자폐증에 걸렸고, 64명은 ADD가 있으며, 64명은 ADHD가 있고, 64명은 공지된 유전적 질환이 있으며, 64명은 정상이다 (공지된 질환이 없다). 데이터는 자폐증, ADD 및 ADHD에 걸린 어린이는 공지된 유전적 질환이 있는 어린이 및 정상 어린이와 비교해서 비정상적으로 낮은 수준의 FCT를 나타내었다는 것을 보여주었다. 다발성 질환이 있는 연령 적합 어린이를 대상으로 하여 다수의 진료소 의사에 의한 시험 동안 FCT 데이터를 모았다. 도 13은 6세에서 18세까지의, 자폐증에 걸린 어린이, ADHD (주의력 결핍 과다활동 장애)가 있는 어린이, ADD (주의력 결핍 장애)가 있는 어린이, 공지된 유전적 장애가 있고 또한 자폐증으로 진단된 어린이, 또는 공지된 질환이 없는 (정상) 어린이의 5개 별개 군에서의 FCT 수준을 도시한 것이다.
- [0256] 도 13의 2개의 상부 라인은 공지된 어떠한 질환도 없는 어린이 및 공지된 동반이환 (유전적 및 다른 장애)가 있는 어린이에게서의 FCT 수준에 상응한다. 3개의 바닥 라인은 자폐증, ADD 및 ADHD가 있는 어린이에게서의 FCT 수준에 상응한다.
- [0257] 자폐증, ADD 및 ADHD 어린이는 공지된 어떠한 질환도 없는 어린이 또는 공지된 유전적 동반이환 또는 외상성 질환이 있는 어린이 보다 상당히 더 낮은 FCT 수준을 갖고 있었다 ($p < 0.01$).
- [0258] **연구 7**
- [0259] 연구 7에서는, 자폐증에 걸린 것으로 진단되었고 비정상적으로 낮은 FCT 수준을 갖고 있는 33명의 어린이를 본 연구에 참여시켰다. 이들 어린이를 2개의 채식/소화 효소 보충물 중의 하나로 치료하거나, 또는 전혀 치료하지 않았다. 0, 30, 60, 90 및 120일째에, 각 어린이에 대한 FCT 수준을 측정하였다.
- [0260] 11명의 어린이에게 저 치료 용량의 ULTRASE[®]
- MT20 (판크레리파제) 캡셀제 (개봉되어 식품 상에 살포된다) (하기 참조)를 제공하였다; 11명의 어린이에게 1/4 티스푼의 최소 투여 수준으로 식품 상에 살포하기 위한 비오카제[®]
- (Viokase[®])
- (판크레리파제) 산제를 제공하였으며; 11명의 어린이는 바로, 측정된 그들의 분변 키모트립신 수준을 갖고 있었다. 모든 어린이는 연령 적합하였고, 신경계 및/또는 유전적 동반이환이 없는 것으로 진단되었다.
- [0261] 각 ULTRASE 캡셀제를 경구 투여하였고, 이는 다음을 함유한 돼지 채식 농축물의 371 mg의 장용 제피 미니정제를 함유하였다:
- [0262] 리파제----- 20,000 U.S.P. 단위
- [0263] 아밀라제----- 65,000 U.S.P. 단위
- [0264] 프로테아제----- 65,000 U.S.P. 단위.
- [0265] **각 0.7 g (1/4 티스푼)의 비오카제 산제**는 다음을 함유하였다:
- [0266] 리파제, USP 단위 16,800
- [0267] 프로테아제, USP 단위 70,000
- [0268] 아밀라제, USP 단위 70,000.
- [0269] 효소 치료를 하지 않은 어린이와 비교해서, 효소 제제 중의 어느 하나를 이용한 치료에 반응하여 FCT 수준이 변화되었는지를 결정하기 위해 120일에 걸쳐 FCT 수준을 모니터링하였다. 120일 기간에 걸쳐 측정된 FCT 수준 결과가 다음 표 14에 제시되어 있다.

표 14

기준선, 및 다중 채식 효소 대체물을 투여한 후 30, 60, 90 및 120일째의 평균 분변 키모트립신 수준

	울트라제	비오카제	치료하지 않음
기준선에서의 평균 FCT (단위)	3.49	3.81	3.1
30일째의 평균 FCT (단위)	5.05	7.02	3.15
60일째의 평균 FCT (단위)	4.82	8.96	3.18
90일째의 평균 FCT (단위)	4.91	13.73	3.25
120일째의 평균 FCT (단위)	5.38	15.1	3.13

N=33

[0270]

[0271]

그 결과가 도 14의 막대 그래프에 도시되어 있다. 각 시점에 대한 상부 막대 (극히 끝이 뾰족한 막대)는 치료받지 않은 어린이에 대한 FCT 수준을 나타낸다. 중간 막대는 비오카제로 치료받은 어린이에 대한 FCT 수준을 나타내고, 각 시점에서의 바닥 막대는 울트라제 치료 후의 FCT 수준을 나타낸다. 표의 결과 및 도 14의 그래프는 기준선에서부터 0 내지 120일까지의 시점에서 비오카제 장용 제피 효소 제제의 투여 후에만 FCT 수준 상의 상당한 변화가 관찰되었다는 것을 표시한다. 가장 큰 변화는 처음 90일에 관찰되었다. 처음 90일 동안의 변화는 90일과 120일 사이에 관찰된 변화와 비교해서 상당하였다. 울트라제 군이 기준선에서부터 120일까지 일부 변화를 나타내긴 하였지만, 그 변화는 유의적이지 않았다.

[0272]

울트라제 내의 리파제는 pH 변화, 및 위에서 발견되는 바와 같은 산성 조건 하에서의 분해에 대해 극히 민감하다. 울트라제 상의 장용 제피로 인해, 상기 효소는 위를 우회할 수 있다. 울트라제는 채식 효소 결핍증으로 인해 고통받고 있는 만성 채식염 및 낭성 섬유증이 있는 성인을 치료하기에 충분한 리파제를 전달하는 데에 유용한 것으로 밝혀졌다. 그러나, 울트라제 및 다른 유사한 생성물 상에서의 장용 제피는 외관상, 이들 조성물의 프로테아제 부분이 근위 소장 (이는 단백질 분해를 위해 필요하다)에 전달될 수 있도록 하지 못한다. 소규모 파일럿 연구에서 입증된 바와 같이, 울트라제는 효소, 구체적으로 키모트립신의 프로테아제 부분을 방출시키지 못하였는데, 이는 울트라제의 투여 후에 측정된 FCT 수준에 의해 결정된 바와 같다. 울트라제 치료된 군에서의 FCT 수준은 치료받지 않은 군에서 발견된 것과 유사하였다.

[0273]

효소의 프로테아제 부분에 대한 최적의 전달 시한 및 위치는, 소화되는 음식물이 근위 소장에서 보내는 시간을 통하여, 음식물 덩어리가 위 내에 있는 시간의 후반부 부터이다.

[0274]

연구 8

[0275]

연구 8에서는, 25명은 자폐증에 걸리고, 17명은 자폐증이나 다른 동반이환이 없는 42명의 연령 적합 어린이를, 다중 병원체 뿐만 아니라 FCT 수준을 포함한 위장 기능 이상의 마커의 존재를 알아보기 위한 대변 시험을 이용하여 조사하였다. 자폐증에 걸린 어린이는 보다 많은 수의 대변 병원체가 존재할 뿐만 아니라 비정상적으로 낮은 수준의 FCT를 갖고 있었다.

[0276]

이러한 소규모 파일럿 연구는 자폐증에 걸리지 않은 어린이와 비교하여 자폐증에 걸린 어린이의 위장 균무리를 조사하기 위해 진행되었다. 위장 건강의 다중 마커를 조사하여, 이들 어린이에게서 비정상적인 위장 체시가 있었는지를 결정하였다.

[0277]

25명은 자폐증에 걸리고, 17명은 자폐증이나 다른 동반이환이 없는 42명의 연령 적합 어린이를, 다중 병원체 뿐만 아니라 위장 기능 이상의 마커의 존재를 알아보기 위한 대변 시험을 이용하여 스크리닝하였다. 당업자에게 공지된 다른 GI 병원체 또는 대변 마커를 또한, GI 기능장애의 마커로서 시험할 수 있다. 다음 표 15는 GI 병원체 또는 다른 대변 마커의 존재 발생율을 나타낸다.

표 15

병원체 및 위장 기능이상을 나타내는 다른 대변 마커의 존재 발생율

	자폐증에 걸림	% 총	자폐증에 걸리지 않음	% 총
낮은 FCT	25	100%	0	0%
씨. 디피실레 (C. difficile) 항원	15	60%	1	6%
분변 엘라스타제 <200	0	0%	0	0%
에이치. 피롤리 (H. pylori) 항원	17	67%	0	0%
이. 히스토리티카 (E. Histolytica) 항원	8	32%	0	0%
기아르디아 (Giardia) 항원	9	36%	1	6%
효모 과성장	4	16%	0	0%
크립토스포리듐 (Cryptosporidium)	9	36%	1	6%

N=25

N=17

[0278]

[0279]

분변 키모트립신의 저 수준을 포함한, 자폐증에 걸린 어린이에게서 양성 대변 마커의 존재는 자폐증에 걸린 환자에게서 부가의 위장 문제가 있다는 것을 표시하였다.

[0280]

연구 9

[0281]

연구 9에서는, 비정상적으로 낮은 FCT 수준을 제시한 자폐증에 걸린 것으로 진단된 3세 내지 8세의 68명 어린이에게 채장/소화 효소의 조합물을 90일 동안 투여하였다. 그 결과, 자폐증의 핵심 증상과 비-핵심 증상 둘 다를 나타내는 5개 구역 중의 5개가 상당히 개선된 것으로 입증되었다.

[0282]

본 연구에서 자폐증에 걸린 어린이에게서 다중 종합적 증상 구역을 조사하는 것에는 위장 증상 뿐만 아니라 자폐증의 핵심 증상이 포함되었다. 자폐증에 걸린 어린이는 시간이 경과함에 따라 변하지 않고, 자폐증의 수준은 어린이의 연령에 상관없이 고정적인 것으로 당해 분야의 문헌에 충분히 입증되었다. 추가로, 자폐증에 걸린 어린이에게는 성숙 변화가 동반되지 않는 것으로 여겨진다.

[0283]

본 연구에서는, 비정상적으로 낮은 FCT 수준을 제시한 자폐증에 걸린 것으로 진단된 3세 내지 8세의 68명 어린이에게 90일 동안 식사 때마다 1/4 티스푼의 비오카제, 및 씹을 수 있는 파파야 효소 (본래의 파파야 효소 브랜드)를 투여하였다.

[0284]

본래의 파파야 효소

[0285]

보충 개요

[0286]

체질 크기: 3 정제

[0287]

용기당 서빙: 33

[0288]

탄수화물 <1 g <1%

[0289]

당 <1 g

[0290]

파파인 45 mg **

[0291]

아밀라제 6 mg **

[0292]

프로테아제 6 mg **

[0293]

파파야 과일 (카리카 파파야) 3 mg **

[0294]

* 2,000 칼로리 식이에 기준함.

- [0295] ** 1일 값은 확립되지 않았다.
- [0296] 의사와 환자에게 본 연구에서 조사된 각 증상에 대한 평가 척도를 완료하도록 요청하였다. 각 증상은 해당 어린이가 과제를 수행할 수 있으므로, 손상이 없다는 것을 입증하는 것을 표시하는 (0) 내지 어린이가 과제를 완전히 수행할 수 없다는 것을 나타내는 (10) 까지 다음 척도로 평가하였다. 과다활동 또는 강박성 행동과 같은 바람직하지 못한 행동과 관련하여, 보다 낮은 스코어에서 보다 높은 스코어로의 변화는 개선을 표시하는데, 이는 해당 어린이에게 바람직하지 못한 행동이 덜 자주 나타나기 때문이다. 평가 척도는 다음과 같다:
- [0297] 10 어린이는 본 과제를 수행할 수 있는 능력이 0%이다
- [0298] 9 어린이는 본 과제를 시간 내에 10% 수행할 수 있다
- [0299] 8 어린이는 본 과제를 시간 내에 20% 수행할 수 있다
- [0300] 7 어린이는 본 과제를 시간 내에 30% 수행할 수 있다
- [0301] 6 어린이는 본 과제를 시간 내에 40% 수행할 수 있다
- [0302] 5 어린이는 본 과제를 시간 내에 50% 수행할 수 있다
- [0303] 4 어린이는 본 과제를 시간 내에 60% 수행할 수 있다
- [0304] 3 어린이는 본 과제를 시간 내에 70% 수행할 수 있다
- [0305] 2 어린이는 본 과제를 시간 내에 80% 수행할 수 있다
- [0306] 1 어린이는 본 과제를 시간 내에 90% 수행할 수 있다
- [0307] 0 어린이는 본 과제를 시간 내에 100% 수행할 수 있다.
- [0308] 2개 스코어의 평균을 각 간격, 즉 기준선 및 90일에 취하였다. 수득된 스코어가 다음 표 16에 제시되어 있다.

표 16

소화 효소의 투여 전 및 투여 후의 자폐증에 걸린 어린이에 대한 증상 스코어

	소화 효소의 투여 전 총 환자 스코어의 합	소화 효소의 투여 전 평균 스코어	효소 투여 후 90일째의 총 환자 스코어 합	효소 투여 후 90일째의 평균 스코어
과다활동	300	4.41	568	8.35
강박성 행동	255	3.75	554	8.15
안구 수축	552	8.12	206	3.03
말하기	553	8.13	223	3.28
부분 배변 훈련	515	7.57	197	2.9

N=68

- [0309]
- [0310] CARS 스코어를 사용하여 자폐증의 핵심 증상을 연구하였다. 연구 9에서는, 자폐증의 핵심 및 비-핵심 증상 (과다활동, 강박성 행동, 안구 수축, 말하기, 부분 배변 훈련)의 측정기준을 수득하였다. 자폐증의 진단이 자폐증의 핵심 증상의 행동적 평가를 기준으로 하여 엄격하게 이루어지긴 하였지만, 본 연구는 배변 훈련의 기여와 같은 다른 비-핵심 증상으로 인해, 본 집단에서 상당한 병적 상태가 유발된다고 나타내었다. 본 연구에서 측정된 5개 파라미터는 배변 훈련, 안구 수축, 및 말하기 상의 증가 뿐만 아니라 과다활동 및 강박성 행동 상의 감소가, 소화 효소를 이용한 치료에 의해 개선된 핵심 및 비-핵심 증상이라는 사실을 표시하였다.

[0311] **연구 10 및 연구 11**

[0312] 연구 10 및 11에서는, 각각 비정상적으로 낮은 수준의 분변 키모트립신을 제시한, 2 내지 4세의 225명 어린이 및 5 내지 11세의 171명 어린이에게 150일 기간 동안 체장/소화 효소의 조합물을 1일 3회 투여하였다. 핵심 및 비-핵심인, 총 9개의 자폐증의 종합적 증상 측정기준을 기준선 및 150일 기간에 걸쳐 획득하였다. 핵심 증상과 비-핵심 증상 둘 다에서의 개선을 나타내는 상당한 변화가 모든 연령 수준 전반에 걸쳐 관찰되었는데, 가장 큰 변화는 처음 90일에 걸쳐 일어났다.

[0313] 이들 연구 각각은 연구 9에서의 프로토콜과 유사하게 수행하였다. 어린이를 2 내지 4세 군과 5 내지 11세 군으로 나누었다. 이들 연구에서는, 비정상적으로 낮은 수준의 분변 키모트립신을 제시한, 자폐증에 걸린 것으로 이미 진단된 2 내지 4세의 225명 어린이 및 5 내지 11세의 171명 어린이에게 150일의 기간 동안 식사 때마다 1/4 티스푼의 비오카제, 및 씹을 수 있는 파파야 효소 (본래의 파파야 효소 브랜드)를 투여하였다. 연구 9에서 사용된 바와 동일한 평가 척도를 이들 두 연구에 활용하였다. 부가적으로, 배변 훈련, 손을 필력거림, 습관의 재생, 및 형성된 배변의 수준을 평가하였다. 변화를 경험한 코호트의 %를 또한 계산하였다. 본 연구는 150일 까지 연장하였는데, 90일과 150일 사이에서는 유의성이 관찰되지 않았다.

[0314] 다음 표 17은 과다활동, 강박성 행동, 손을 필력거림, 안구 수축, 말하기, 부분 배변 훈련, 완전한 배변 훈련, 형성된 배변 및 다른 사람과 잘 노는 것을 포함한, 표시된 특징 또는 행동을 나타낸 각 군에서의 어린이 비율에 대해 획득된 측정치를 보여준다.

표 17

효소 대체 후 특징 또는 증상을 나타내는 비율 (%)

측정기준	2 내지 4세, N=225			5 내지 11세, N=171		
	치료 일수			치료 일수		
	0일	60일	150일	0일	60일	150일
일부 안구 수축을 나타냄	4	61	88	14	59	89
일부 말하기를 나타냄	23	58	75	18	64	86
부분적으로 배변 훈련받음	8	61	75	11	47	72
완전한 배변 훈련받음	4	30	45	16	16	20
형성된 배변을 나타냄	15	88	100	16	18	97
과다활동을 경험함	85	38	19	98	51	33
다른 사람과 잘 논다	12	38	60	36	43	71
손을 필력거린다	81	46	31	75	36	28
다른 OCD를 경험함	90	73	32	91	58	22

[0315]

[0316] 연구 9, 10 및 11에서는, 자폐증의 핵심 및 비-핵심 증상의 측정치를 획득하였다. 자폐증의 진단이 자폐증의 핵심 증상의 행동 평가에 따른 결과로서 엄격하게 이루어지긴 하였지만, 다른 비-핵심 증상들이 이러한 집단에게 상당한 병적 상태를 유발시킨다. 배변 훈련의 결여 및 형성된 배변은, 예를 들어 부모에게 곤란을 주고, 종종 사회적 통합 결여를 유발시켜, 자폐증의 핵심 증상에 추가로 일조한다. 자폐증의 비-핵심 증상으로 인한 부가의 고립은 학습하고 사회적으로 통합할 수 있는 어린이의 능력을 추가로 방해한다. 이러한 역학은 상기 집단에서 지속적으로 존재한다. 이러한 효과는 자폐증의 핵심 증상의 상당한 구동제가 될 수 있다. 이는 이들 비-핵심 증상들이 자폐증의 지표로서 또한 유용할 수 있다는 것을 입증한다.

[0317] **실시예 12: 자폐증의 치료에 사용된 효소 전달 시스템**

[0318] 본 발명에 따르는 캡슐화 소화 효소 제제를 파우치당 900 mg을 함유하는 파우치에 패키징하고, 음식물을 제공하기 직전에 하나의 파우치 내용물을 음식물에 살포함으로써 그를 필요로 하는 환자에게 1일 3회 투여하였다. 환자가 본 발명의 제제와 같은 캡슐화 소화 효소 제제를 포함한 소화 효소를 이용한 치료의 투여를 필요로 하는지의 여부를 결정하는 것은 소화 효소 결핍증의 마커로서 유용한 모든 시험 또는 지표를 이용하여 수행할 수 있다. 이러한 결정은, 예를 들어 FCT 수준, 행동 증상 (자폐증의 핵심 또는 비-핵심 증상), 또는 소화 효소의 활성 및/또는 발현에 영향을 미치는 유전자 상의 돌연변이 (예를 들어, MET 유전자 돌연변이)의 탐지를 이용하여 수행한다.

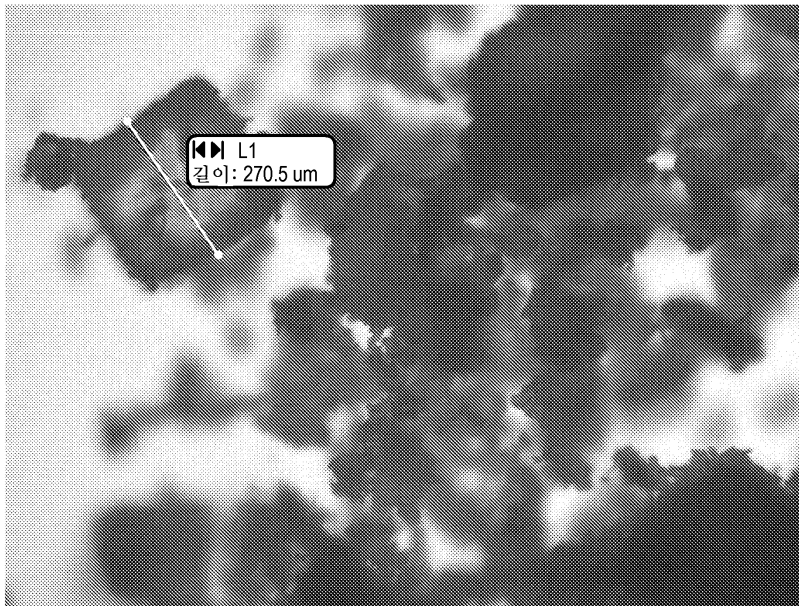
[0319] 치료를 시작하기 전 및 후에 환자의 질환 또는 질병의 관련 증상을 측정하였다. 일부 안구 수축, 일부 말하기, 부분 배변 훈련, 완전 배변 훈련, 형성된 배변, 및 다른 사람과 잘 놀 수 있는 능력을 나타내는 환자의 비율은 60일째, 또는 60일 보다 초기에 증가하고, 150일째에 추가로 증가한다. 본 발명의 소화 효소를 이용한 치료시

관찰된 변화는 보다 짧은 시간 과정에 걸쳐 일어나고/나거나 소정의 시점에서 각 개체에게서 보다 큰 개선을 가져다 주고/주거나 치료받은 개체의 보다 높은 비율에서 핵심 및 비-핵심 증상을 개선시켜 준다. 또한, 과다활동, 손을 펴려거림 또는 또 다른 OCD 상의 감소를 나타내는 환자 수가 상응하게 증가하는 것은 60일째에 관찰되는데, 행동 상의 감소를 나타내는 환자의 수가 추가로 증가하는 것은 150일째이다.

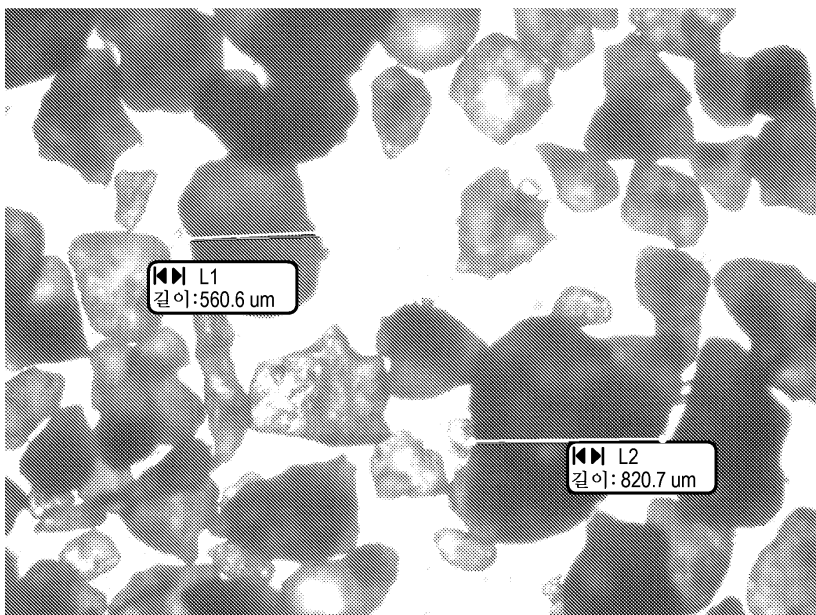
[0320] CARS 시험에서 측정된 바와 같은 자폐증의 다른 핵심 증상이 또한 관찰되었고, 이는 치료에 따른 결과를 개선시키는 것으로 밝혀졌다.

도면

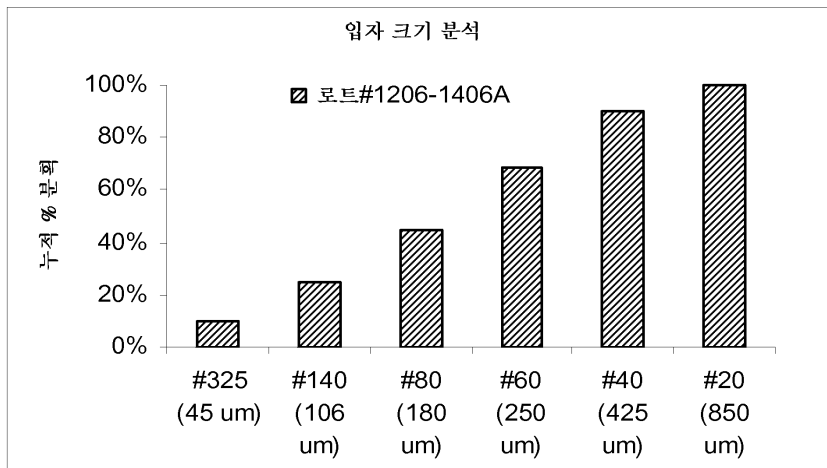
도면1



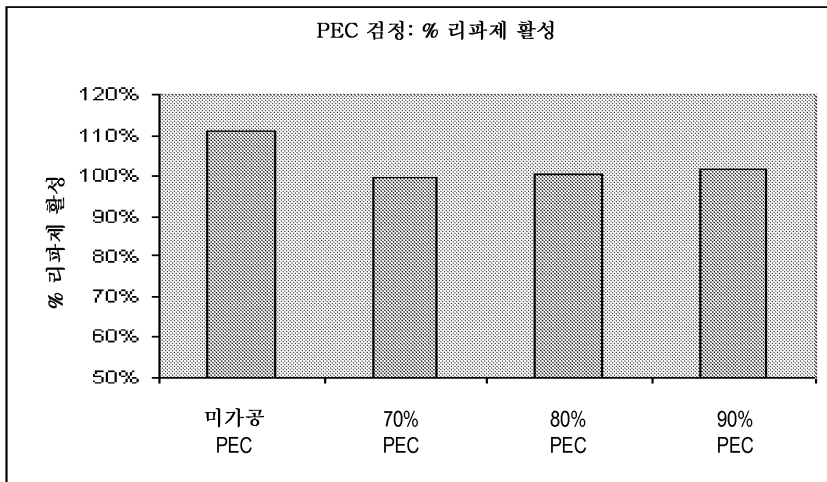
도면2



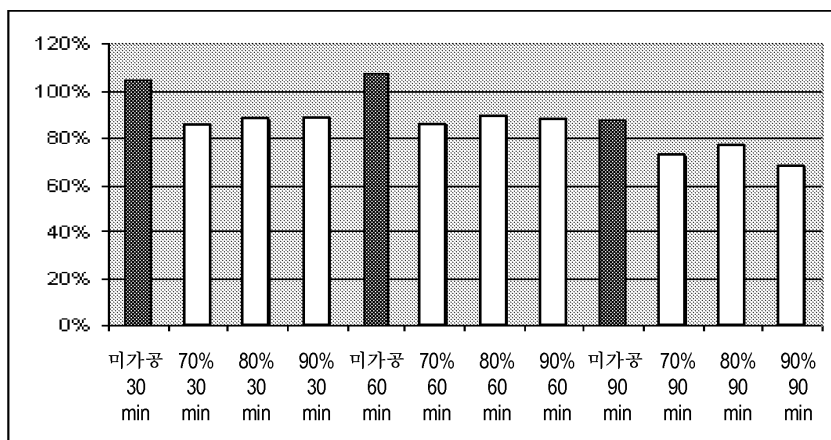
도면3



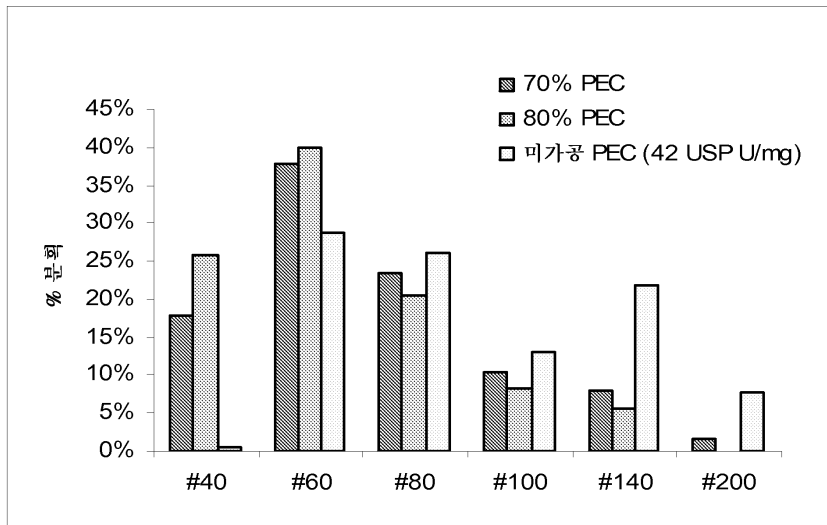
도면4



도면5

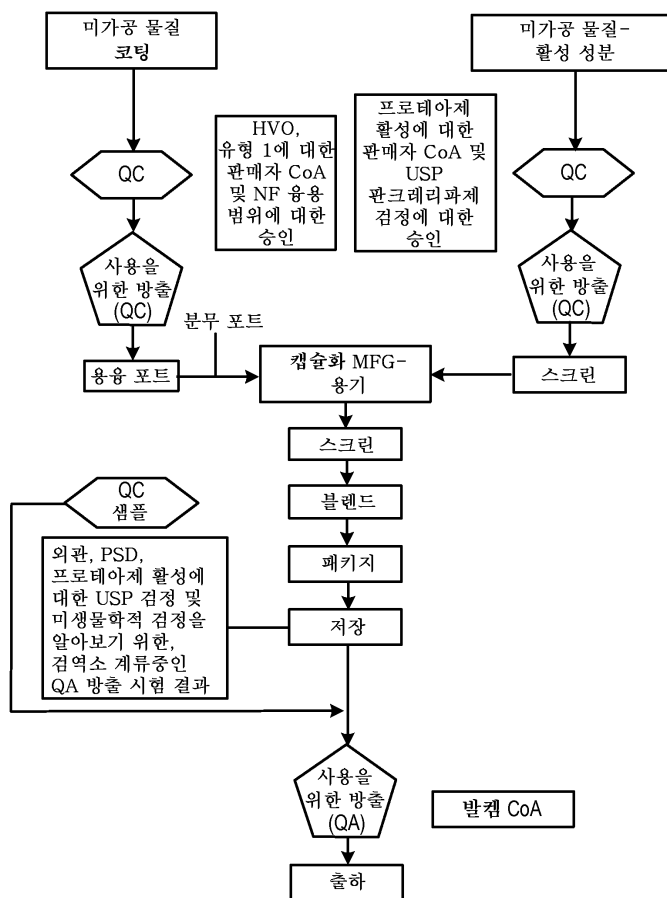


도면6

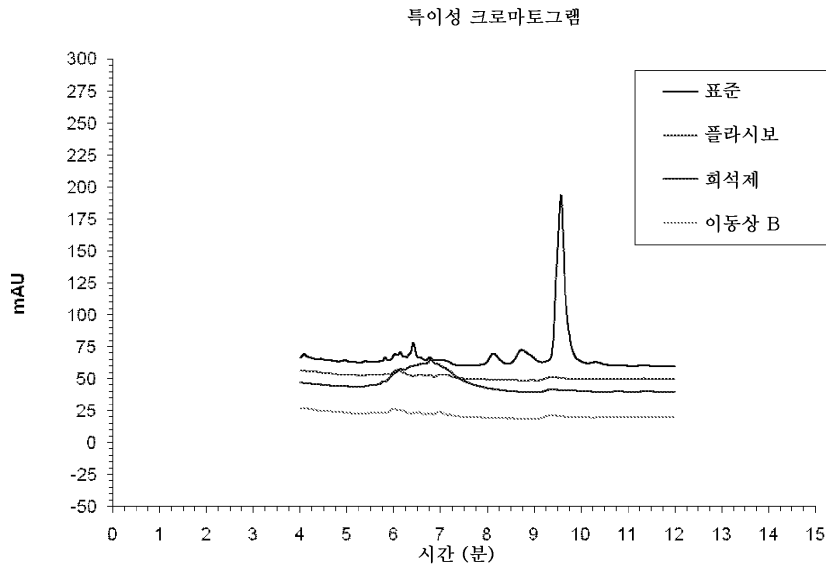


도면7

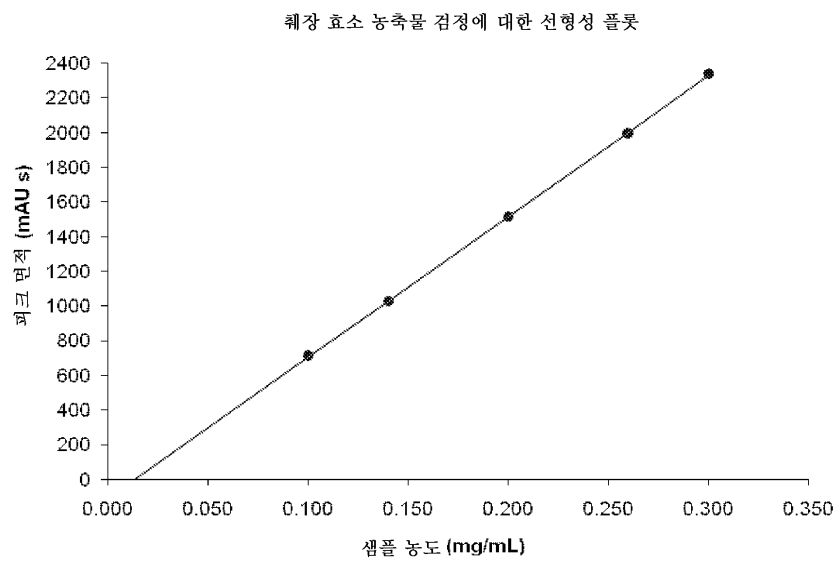
발캡 코포레이션
캡슐화 생성물에 대한
플로우 차트



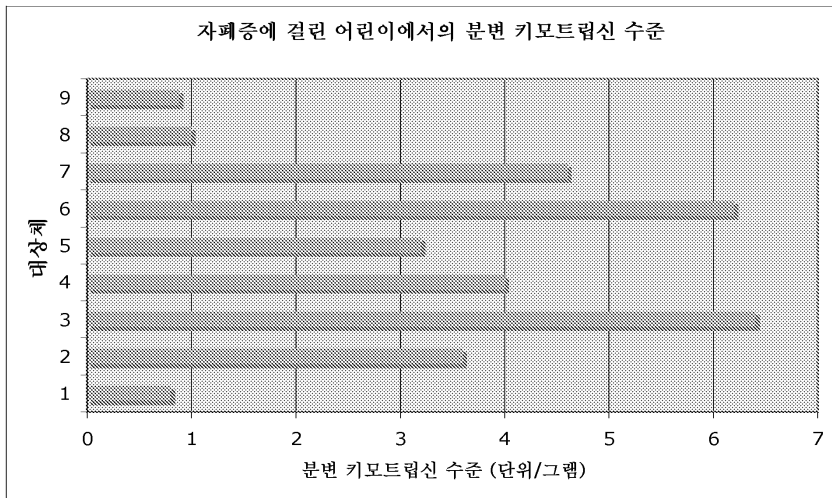
도면8



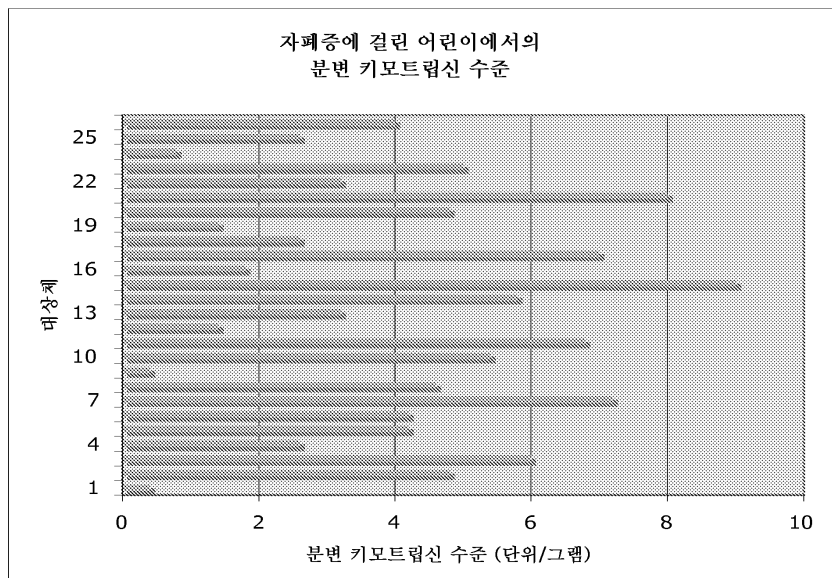
도면9



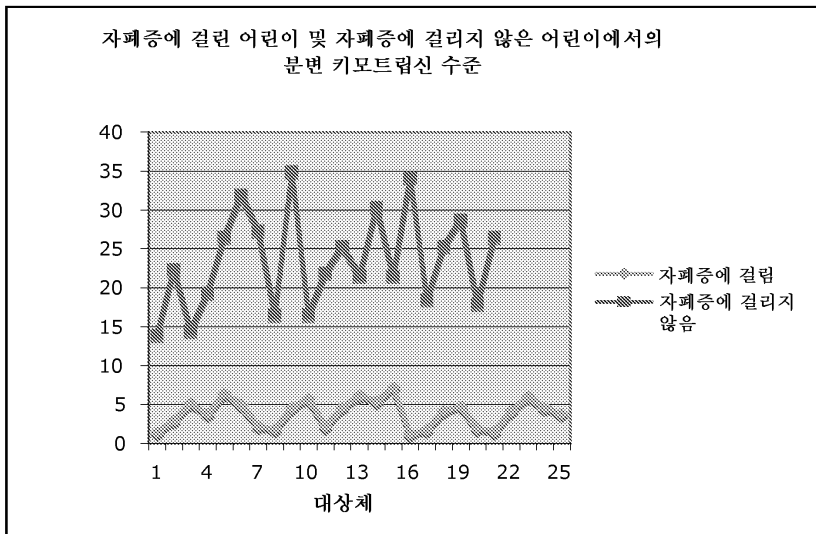
도면10



도면11

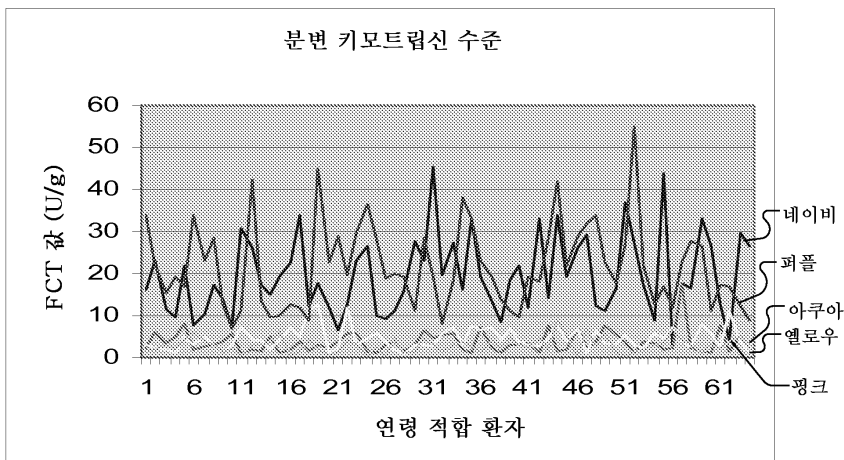


도면12



도면13

6 내지 18세 어린이의 5개 군에서의
키모트립신 수준 측정치



별례

- 퍼플 - 정상 (공지된 어떠한 질환도 나타내지 않는 어린이)
- 네이비 - 공지된 질환 (유전적 및 다른 질환)이 있는 어린이
- 아쿠아 - 자폐증에 걸린 어린이
- 옐로우 - ADD에 걸린 어린이
- 핑크 - ADHD에 걸린 어린이

도면14

